

51457-2001700-10361



DELPHION

RESEARCH

PRODUCTS

INSIDE DELPHION

Log Out Work Files Saved Searches

My Account

Search: Quick/Number Boolean Advanced Derwent Help

The Delphion Integrated View: INPADOC Record

Get Now: ☒ PDF | More choices... Tools: Add to Work File:

View: Jump to: Go to: Derwent ☒ Email this to a friend

Title: CN1450173A: SARS related coronal virus total genom chip and use thereof

Derwent Title: A total genome gene chip useful for diagnosing coronary virus related to SARS disease

Country: CN China

Kind: A Unexamined APPLIC. open to Public Inspection

Inventor: XIAOYUE WU; China

XIN MA; China

LUFENG REN; China

Assignee: BENYUAN ZHENGYANG GENE TECHNOLOGY CO., LTD. China

News, Profiles, Stocks and More about this company

Published / Filed: 2003-10-22 / 2003-04-25

Application Number: CN2003000122953

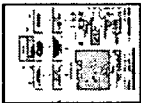
IPC Code: C12Q 1/68; C12N 15/11; C12N 7/01; C07H 21/04;

ECLA Code: None

Priority Number: 2003-04-25 CN2003000122953

Abstract:

The present invention relates to a total genom gene chip for diagnosing coronary virus related to SARS disease, and provides a new primer for obtaining high detection rate. Said total genom gene chip includes detection monitoring system (A) and disease diagnosis system, and can accurately and quickly detect the coronary virus related to SARS, and can shorten the diagnosis time. Said invention is special applicable to living body detection of quarantine office, hospital clinical sample, biological environment virus pollution monitoring, controlling propagation of the disease after patient discharge, and establishment of said virus gene bank and tracking



High Resolution

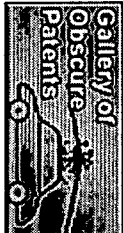
animal source of said SARS coronary virus, and has the important action.

Family:

PDF	Publication	Pub. Date	Filed	Title
<input checked="" type="checkbox"/>	CN1450173A	2003-10-22	2003-04-25	SARS related coronal virus total genom chip and use thereof
1 family members shown above				

Other Abstract Info:

DERABS C2004-083768



Nominate this for the Gallery...



Copyright © 1997-2005 The Thomson Corporation
Subscriptions | Web Seminars | Privacy | Terms & Conditions | Site Map | Contact Us | Help

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C12Q 1/68

C12N 15/11 C12N 7/01

C07H 21/04



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03122953.0

[43] 公开日 2003 年 10 月 22 日

[11] 公开号 CN 1450173A

[22] 申请日 2003.4.25 [21] 申请号 03122953.0

[71] 申请人 本元正阳基因技术股份有限公司

地址 100176 北京市经济技术开发区永昌中
路 6 号

[72] 发明人 吴小岳 马 鑫 任鲁风 董小岩

权利要求书 1 页 说明书 24 页 附图 1 页

[54] 发明名称 与 SARS 相关的冠状病毒全基因组
芯片及其用途

[57] 摘要

本发明涉及用于急性传染性疾病 SARS 相关冠状病毒诊断的全基因组基因芯片，并提供了用于诊断其它有经济价值的动物冠状病毒基因芯片的高检出率的新引物。该全基因组基因芯片包括检测监控系统(A)和疾病诊断系统(B)两个系统，可准确、快速检测 SARS 相关冠状病毒，并设有检测监控系统，诊断时间更短，且大大提高诊断准确性。本发明的 SARS 冠状病毒全基因组芯片尤其适用于检疫局的生物体检测、医院临床样本，生物环境病毒污染监控、病人出院后疾病的传播及人群中 SARS 冠状病毒基因组水平的微小变化规律及基因多样性数据库的建立，特别对追踪 SARS 冠状病毒的动物来源都将具有十分深远的重要意义。本发明特别应用于诊断领域。

ISSN 1008-4274

1. 本发明描述了一种基因芯片，其特征是固定在基片上的探针矩阵覆盖了 SARS 冠状病毒的全基因组序列。
2. 权利要求 1 所述的 SARS 冠状病毒的全基因组序列是指 GenBank 已公布的 SARS 冠状病毒毒株或亚型的全基因组序列。
3. 权利要求 2 中所述的 SARS 冠状病毒毒株或亚型包括 SARS coronavirus TOR2 (GenBank 序列号: NC_004718/AY274119), SARS coronavirus HKU-39849 (GenBank 序列号: AY278491), SARS coronavirus CUHK-WI (GenBank 序列号: AY278554), SARS coronavirus Urbani (GenBank 序列号: AY278741), SARS coronavirus BJ01 (GenBank 序列号: AY278488), SARS coronavirus BJ02 (GenBank 序列号: AY278487), SARS coronavirus BJ03 (GenBank 序列号: AY278490), SARS coronavirus BJ04 (GenBank 序列号: AY279354), SARS coronavirus GZ01 (GenBank 序列号: AY278489)。
4. 权利要求 1 所述的基因芯片上的探针特征是从 SARS 冠状病毒全基因组中的每 40-80 个碱基序列作为一个探针序列，相邻探针序列重复 5-30 个碱基。
5. 权利要求 1 所述的基因芯片上的探针特征特别是指以 70 个碱基序列作为一个探针序列，相邻探针序列重复 25 个碱基的模式。
6. 权利要求 1 所述的基因芯片的用途之一是用于检测 SARS 冠状病毒。
7. 权利要求 6 所述的检测对象可以包括来自人体的血液及分泌物等临床样品、动植物样品、食品水源样品以及水环境和大气环境样品等等。
8. 权利要求 1 所述的基因芯片的用途之二是用于监测 SARS 冠状病毒的变异和亚型。
9. 权利要求 8 所述的监测对象可以包括来自人体的血液及分泌物等临床样品、动植物样品、食品水源样品以及水环境和大气环境样品等等。
10. 权利要求 1 所述的基因芯片的用途之三是用于鉴别 SARS 冠状病毒和其它冠状病毒。
11. 权利要求 10 所述的鉴别对象可以包括来自人体的血液及分泌物等临床样品、动植物样品、食品水源样品以及水环境和大气环境样品等等。

与 SARS 相关的冠状病毒全基因组芯片及其用途

技术领域 本发明属于生物技术领域，具体涉及与 SARS 相关的冠状病毒全基因组芯片及其构建策略、方法及用途。

背景技术 病毒检测基因芯片背景。基因芯片，简单地说就是在—块特殊处理过的玻璃片或其它固相支持物（如硅片、聚丙烯膜、硝酸纤维素膜、尼龙膜等）上，将基因探针以大规模阵列的形式排布，形成可与目的分子（如病毒基因组）相互作用的固相表面。分子杂交后的探针阵列因为探针上结合目的分子的不同而在激光的顺序激发下分别呈现不同的荧光发射谱征，根据其波长及波幅特征收集信号，作出比较分析从而得到所要的信息。

基因芯片现今的应用主要有以下方面：基因表达时空特征分析；基因差异表达检测；新基因的发现；大规模 DNA 测序；基因型、基因突变和多态性分析；遗传病相关基因的定位；肿瘤相关基因的检测；单一或少量感染性疾病的诊断以及药物研究等。

病毒检测芯片具有以下特点：

- 1、高通量：每平方厘米上可以结合 5000~10000 个核酸探针，也就是说可以同时平行地进行上万个分子杂交反应。现今基因序列已知的上千种病毒仅通过一张芯片就可以完全容纳。
- 2、高精度、灵敏度：通过分子杂交来检测病毒的存在是当前应用的技术中精确性和特异性最高的，据报道中表明，应用基因芯片技术进行临床诊断，准确度可达到 98%~100%。
- 3、组合性：现在开发出的可以检测病毒的基因芯片产品均只能单一性检测一种或少量几种病毒，如此则不能发挥基因芯片最大的技术优势。我们的病毒组合检测芯片将几乎全部已知病毒的检测组合在一张芯片上，最大程度地利用芯片技术的潜力，提高时效性的同时降低成本。病毒的组合检测对于环境监控和质量监督等方面则具有划时代的意义。
- 4、周期短、低成本、低工作量：通过常规方法对病毒进行分子检测通常至少需要一周时间，且对于多种病毒则需要相同的工作重复进行。病毒组合检测芯片可以在 4~5 小时的自动化过程中一次性检测所有病毒，大大降低工作时耗、强度和试验成本。

SARS 冠状病毒相关背景及 SARS 冠状病毒全基因组芯片的背景技术：

从 2002 年 11 月到现在，世界范围内的急性呼吸窘迫综合征（severe acute respiratory syndrome, SARS）的爆发和流行被证明与一种新型变异的冠状病毒相关，目前国际上将这种病毒叫做 SARS 相关冠状病毒（SARS related virus）或 SARS 病毒（SARS virus），在本发明中我们称之为“与 SARS 相关的冠状病毒”。在中国将这种急性呼吸窘迫综合征也称做非典型性肺炎。3 月 23 日，亚特兰大的美国疾病预防控制中心寄往 UCSF Dr. Deresi 教授的标本经过其对包含 1000 种病毒的芯片测试，首次证实造成这种大规模流行的病因是一种冠状病毒。继之，加拿大 BCCA 基因组科学中心 4 月 13 日首次发布了 SARS 冠状病毒（Genbank 序列号：AY274119）全序列，4 月 15 日 Genbank 加以注释再次发布（Genbank 序列号：NC_004718）。4 月 16 日给猴子单独接种这种从临床确诊病人身上分离的 SARS 冠状病毒，发现在猴子身上引起的症状与 SARS 病人极其相似。WHO 的 SARS 多中心协作研究成员在 WHO 多国协作研究基础上基本确定一种新型冠状病毒是这种急性呼吸道症状 SARS 的病原，衣原体等其它可疑病原仍需进一步评估。

所报道的目前认为是 SARS 的发病原因的冠状病毒，是一种变异程度非常大的冠状病毒。它属于冠状病毒科（来自拉丁语 corona，象皇冠的），是一种 RNA 病毒，病毒体含有单链正链线性 RNA 分子，感染脊椎动物，尤其是温血动物，包括一些哺乳类（比如人、牛、猫、猪和鼠），以及几种禽类（比如火鸡和鸡）。该科病毒基因组由 RNA 组成，具有 29,000 个到 31,000 个碱基。

香港大学最新发现,感染人类的“非典”病毒成员最少有6个。这项发现,可为近日部分患者药物无效、病情反复之谜,提供破解的线索。然而,从卫生防疫角度看,“非典”病毒数目繁多,短期内逐一击破,会非常困难。港大医学院微生物学系将多个来自世界各地的“非典”病毒样本作比较,竟发现当中6个病毒样本,某一段基因出现不相同的组合,包括两个来自香港本地、两个来自广州、一个来自加拿大和一个来自美国的,就是说6个病毒是家族中不同的成员。不过,目前尚不知哪个样本的病毒是“母体”,研究人员倾向于来自香港的一个样本与来自加拿大和美国的相似;而来自香港的另一个样本,则与广州的两个样本相似。暂时未知这些非典型肺炎病毒家族成员是本已存在,还是由其中一种非典型肺炎病毒变种衍生出来的。而各家族成员之间的关系,以至病征上的异同都尚未清楚。不过,这发现可能有助解答一系列患者感染后出现病情极大差异之谜。

香港大学的研究结果,证实一直以来不少人“非典”病毒不只一种的担忧,是正确的。虽然未知这六个病毒成员之间的关系,但由于成员有六个之多,有关专家由此推断,非典型肺炎的康复者有可能在康复后,再受另一种病毒成员侵袭,身体并没有相应抗体下而受感染,造成重复感染的现象。另一方面,若病毒有6个成员,部分病患者体内可能同时有两个以上不同病毒成员,令医护人员更难制订有效的治疗方案。医护人员必须知道病人身上的病毒是哪一个成员,才可以采取最有效的治疗方案,而测试方法亦因此受到限制。这无疑对防治及康复等工作倍添困难。

历史上,标准病毒检测技术依赖于病毒分离和体外病毒培养或者免疫检测。当前SARS冠状病毒的抗体和抗原标准还未建立,并且免疫检测主要依赖于抗体的质量和可获得性,SARS冠状病毒单克隆抗体和ELISA的IgM抗体研究还在进行。SARS标准化细胞株也未建立,SARS冠状病毒体外培养较难,SARS冠状病毒代谢模式和抗体动力学研究仍不清楚,已经开发出的SARS冠状病毒诊断ELISA试剂盒的敏感性及特异性还有待进一步确认。甚至是目前最好的方法学的缺陷也变得明显。我们研制的SARS冠状病毒全基因组芯片除了在诊断上具有绝对优势,对基因多样性数据库的建立;人群中SARS冠状病毒全基因组序列变异的监控以及环境中SARS冠状病毒污染的监控有特别重要的意义。目前针对冠状病毒的实验室检测存在着局限性,因此SARS冠状病毒全基因组芯片的应用是十分必须的。下面将就三个方面阐述SARS冠状病毒全基因组芯片的重要意义:

(1) SARS冠状病毒全基因组芯片对于“超级传染源”的早期发现以及愈后病人对环境污染的监控有重要意义。PCR检测具有很好的特异性,但是无法检测出所有分泌冠状病毒的病人。尽早并可靠地检测出SARS冠状病毒可以帮助医生识别当病人出现发烧和其他可疑症状时是否感染了SARS,同时将其及时隔离并严格实施控制感染的措施。这将大大降低SARS病人将疾病继续传播的危险。

“超级传染源”一词用以描述一名感染SARS的病人将疾病传染给很多人。“超级传染源”的现象出现在疾病暴发的早期,当时对这种现象没有足够的认识 and 了解。最初人们只知道SARS是一种新型疾病,认为很多患有非典型性肺炎的病人是由其他原因造成的,因此并没有对感染者实施隔离和严格的控制措施。因此疾病暴发的早期没有实行严格的感染控制措施。在缺乏保护措施的情况下,很多医务工作者,病人亲属以及前往医院的探视者都暴露于SARS冠状病毒之下,随后也都发展为SARS病患。有专家指出SARS病人出院后在一段时间内都有可能对环境造成潜在的SARS冠状病毒威胁。

(2) SARS冠状病毒全基因组芯片对于追踪并确定SARS冠状病毒的动物来源有重要意义。已有报道狗的主人中一人因感染“非典”后死亡,家中其他成员也根据防治“非典”的有关措施予以隔离。家人养的这只宠物狗,也在此期间死亡,有关部门还没有确定其是否是因为感染“非典”而死。荷兰Utrecht大学的Peter Rottier研究小组通过对传染性猫腹膜炎病毒(Feline Infectious Peritonitis Virus, FIPV)导入小鼠冠状病毒的一个基因片段,猫

FIPV 就可以感染小鼠细胞了, 这项研究证明冠状病毒能够通过基因改组轻易的改变宿主, 进而推断 SARS 冠状病毒可能是现有的动物及人类冠状病毒突变成一种更致命的形式造成的。如果另外的证据支持这种动物性感染, 通过对动物身上分离得到的 SARS 冠状病毒进行全基因组芯片分析可以轻易分析证实这种种系间传播的分子依据。

(3) SARS 冠状病毒全基因组芯片对于 SARS 冠状病毒基因多样化数据库的建立有重要意义。有报道说从台湾两个人分离到 SARS 冠状病毒其并不出现 SARS 相关临床症状, 对这种分离到的 SARS 冠状病毒进行全基因组芯片分析有助于对 SARS 冠状病毒遗传抗性的认识。当然 SARS 冠状病毒可能存在的天然遗传抗性不是由单一因素决定的, 但是仅仅依靠血清学以及 PCR 的方法不能确定 SARS 冠状病毒相关具体基因的多样性以及可能发生的微小改变, 当 RNA 病毒(比如 HIV 病毒和流行性感冒病毒)在活细胞内迅速增殖(基因组复制和病毒体装配)时, 它们可以在短期内较容易地在不同组织中改变其遗传结构。因此, 专家认为研究 SARS 冠状病毒的突变范围对病毒感染的诊断和治疗是非常必要的。SARS 冠状病毒全基因组芯片可以方便快捷地达到这一目的, 对病毒毒株的变异以及分子流行病学调查有重要意义。

我们设计的 SARS 冠状病毒全基因组芯片主要根据 GenBank 公布的 SARS 相关冠状病毒全基因组序列(GenBank 序列号: NC_004718)以及迄今 GenBank 公布的所有 SARS 冠状病毒全基因组序列(包括 1、SARS 冠状病毒 HKU-39849, GenBank 序列号: AY278491; 2、SARS 冠状病毒 Urbani, GenBank 序列号: AY278741; 3、SARS 冠状病毒 CUHK-W1, GenBank 序列号: AY278554; 以及 GenBank 已公布了部分基因组序列的 SARS 冠状病毒 1、SARS 冠状病毒 BJ04, GenBank 序列号: AY279354; 2、SARS 冠状病毒 BJ03, GenBank 序列号: AY278490; 3、SARS 冠状病毒 GZ01, GenBank 序列号: AY278489; 4、SARS 冠状病毒 BJ01, GenBank 序列号: AY278488; 5、SARS 冠状病毒 BJ02, GenBank 序列号: AY278487; 6、SARS 冠状病毒 Taiwan RNA-directed RNA 多聚酶(pol)基因部分编码区, GenBank 序列号: AY268049; 7、SARS 冠状病毒 Vietnam200300592 多聚酶基因部分编码区, GenBank 序列号: AY269391)。它与现在已有的冠状病毒比较结果显示, 其核苷酸水平的相似性极差。其中我国测完 SARS 冠状病毒全基因组序列的五株 SARS 相关冠状病毒分别分离自广州和北京地区的患者及死亡病例中。其中两株分别来源于不同地区死亡病例的尸解肺组织标本; 一株来源于北京尸解肝和淋巴结组织混合物; 还有一株则来源于北京患者鼻咽拭子标本。

与加拿大与美国发布的冠状病毒序列的比较显示, 该病毒的变异能力极强, 在很短的几代内有多处碱基突变。包括进这些不同来源的所有标本全基因组序列, 将使我们的芯片覆盖了所有已知的变异并将十分准确地确定标本是否被 SARS 冠状病毒感染, 并有助于了解病毒的突变机制, 及时掌握病毒在各地区的分布情况, 提高检测的准确性。

我们的选择策略是, 从待选基因组序列的 5' 端开始, 以 40-80 个碱基为探针标准长度, 相邻探针重叠 5-30 个碱基, 选出的探针序列完全覆盖了整个基因组序列。与存放小量的 PCR 扩增基因策略不同, 这使我们能够靶向基因的最大独特性区域, 得以在保留敏感性的同时消除交叉杂交的问题。而且它不需要昂贵的和费时的酶扩增以及证实上千条 DNA 模板的过程。这对冠状病毒特别重要, 因为其基因组 A/T 含量比较高, 约 60%, 使用较长的合成的寡核苷酸解决了这一问题。

根据同样的选择策略, 我们设计了针对猪传染性胃肠炎病毒(Porcine transmissible gastroenteritis virus, TGEV)以及禽传染性气管炎病毒(Avian infectious bronchitis virus)的 40-80 碱基对长的病毒最保守序列的特异性寡核苷酸探针, 这样在快速排查 SARS 冠状病毒的基础上可以进一步排查是否还有其它动物类型冠状病毒的感染。冠状病毒在人以及家畜和实验动物上引起的许多疾病都有重要经济价值, 经常导致动物严重的肠道或者呼吸道感染。猪传染性胃肠炎是由冠状病毒属的猪传染性胃肠炎病毒引起的一种急性、高度接触性的传染病。病猪和带毒猪是本病的主要传染来源。日前尚无特效的药物可供治疗, 此病发病

率很高,传播快,一旦发病,采取隔离、消毒措施效果不大。禽传染性支气管炎,通常可根据发病情况,解剖所见作出诊断。目前尚无特效药物。

本芯片还包含从烟草花叶病毒全基因组序列以及人基因组中 10000 个已知基因和 7000 多个 EST 片段选出的 40-80 个碱基对长的寡核苷酸的阴性探针,共计有数十个至一百个芯片扫描的阴性对照点。将杂交完毕的芯片置于激光共聚焦芯片扫描仪中进行图像数据的转换,以激光作为激发光源进行扫描,采集各个杂交点荧光信号的位置、荧光强度等信息,运用专业分析软件例如 AMAD (Analysis of Microarray Data 的缩写) 对所采集的数据进行数据转换,主要组成分析、各种簇的分析,进而确定样品是否有 SARS 感染。本芯片将仔细选择的病毒序列与随机扩增步骤组合,克服了以往基于 RT-PCR 检测策略的局限,使得检测范围更广,检测结果更为公正。

冠状病毒在人以及家畜和实验动物上引起的许多疾病都有重要经济价值,经常导致动物严重的肠道或者呼吸道感染。

猪传染性胃肠炎是由冠状病毒属的猪传染性胃肠炎病毒引起的一种急性、高度接触性的传染病。病猪和带毒猪是本病的主要传染来源。目前尚无特效的药物可供治疗,此病发病率很高,传播快,一旦发病,采取隔离、消毒措施效果不大。禽传染性支气管炎,通常可根据发病情况,解剖所见作出诊断。目前尚无特效药物。

我们在国际互联网上查获,国际上只有 Combimatrix 公司宣布在 SARS 病毒全序列发布 48 小时之内研发出了诊断 SARS 相关冠状病毒的芯片。本发明的与 SARS 相关的冠状病毒全基因组芯片包括进刚刚测完序的全基因组序列信息,并立足于现有的芯片开发及病毒背景资源丰富的优势,将不断完成的其它 SARS 病毒变异序列有效地包括进去。

下面是目前已知的所有冠状病毒分离株:

```

+---Corona_S2 (130)
+---Viruses(130)
+---ssrna positive-strand viruses-no dna stage(130)
+---nidovirales(130)
+---coronaviridae (130)
+---coronavirus transmissible (5)
+---coronavirus enteric (2)
+---coronavirus epidemic (4)
+---coronavirus coronavirus (37)
+---coronavirus sialodacryoadenitis (1)
+---coronavirus gastroenteritis (5)
+---coronavirus hepatitis (9)
+---coronavirus infectious (61)
+---coronavirus hemagglutinating (1)
+---coronavirus respiratory (5)

```

下面是目前已经得到全基因组序列的冠状病毒:

```

•Avian infectious bronchitis virus
. Avian infectious bronchitis virus (strain 6/82)
. Avian infectious bronchitis virus (strain Beaudette CK)
. Avian infectious bronchitis virus (strain Beaudette M42)
. Avian infectious bronchitis virus (strain Beaudette US)
. Avian infectious bronchitis virus (strain Beaudette)

```

- . Avian infectious bronchitis virus (strain D274)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain D3896)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain Gray)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain KB8523)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain M41)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain Portugal/322/82)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain UK/123/82)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain UK/142/86)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain UK/167/84)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain UK/183/66)
- . Avian infectious bronchitis virus (strain UK/68/84)
- Avian infectious laryngotracheitis virus
- Enteric coronavirus
- Equine coronavirus
- Group 1 species
 - Canine coronavirus
 - Feline coronavirus
 - Human coronavirus (strain 229E)
 - Porcine epidemic diarrhea virus
 - Transmissible gastroenteritis virus
- Group 2 species
 - Bovine coronavirus
 - Human coronavirus (strain OC43)
 - Murine hepatitis virus
 - Porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus
 - Rat coronavirus
- Group 3 species
 - Turkey enteric coronavirus
- Human enteric coronavirus 4408

发明内容 本发明中, 我们的芯片设计的策略是以 SARS 冠状病毒 TOR2 株全基因组序列 (NC_004718) 为检测对象, 设计相应的探针和芯片。我们以 SARS 冠状病毒全基因组中的每 40-80 个碱基序列作为一个探针序列, 相邻探针序列重复 5-30 个碱基, 特别是以 70 个碱基序列作为一个探针序列, 相邻探针序列重复 25 个碱基作为首选的选择模式, 从而覆盖整个 SARS 冠状病毒的基因组。合成好的探针利用基因芯片点样仪点制于固相载体表面, 固相载体可以包括玻璃片、硅片、聚丙烯膜、硝酸纤维素膜、尼龙膜等材料制成的片基。

利用逆转录及聚合酶链反应技术, 我们将来自人体的血液及分泌物等临床样品以及相关病毒的标准样品等中提取的总体 RNA 进行逆转录和扩增, 在扩增的过程中掺入荧光标记。扩增标记产物与芯片进行杂交反应后, 荧光信号通过基因芯片扫描仪扫描分析处理, 最终得到全基因组探针的阴阳性结果。经过与标准毒株杂交结果的对比可以得到检测样品的带毒情况。

本发明的技术路线是: 探针设计、探针合成、芯片点制、样本处理与标记、芯片杂交、结果分析。

本发明描述了一种基因芯片, 其特征是固定在基片上的探针矩阵覆盖了 SARS 冠状病毒的全基因组序列, 所描述的 SARS 冠状病毒的全基因组序列是指 GenBank 已公布的 SARS 冠

状病毒毒株或亚型的全基因组序列，所描述的 SARS 冠状病毒毒株或亚型包括 SARS coronavirus TOR2 (GenBank 序列号: NC_004718/AY274119), SARS coronavirus HKU-39849 (GenBank 序列号: AY278491), SARS coronavirus CUHK-W1 (GenBank 序列号: AY278554), SARS coronavirus Urbani (GenBank 序列号: AY278741), SARS coronavirus BJ01 (GenBank 序列号: AY278488), SARS coronavirus BJ02 (GenBank 序列号: AY278487), SARS coronavirus BJ03 (GenBank 序列号: AY278490), SARS coronavirus BJ04 (GenBank 序列号: AY279354), SARS coronavirus GZ01 (GenBank 序列号: AY278489)。

本发明所描述的基因芯片上的探针特征是从 SARS 冠状病毒全基因组中的每 40-80 个碱基序列作为一个探针序列，相邻探针序列重复 5-30 个碱基，所描述的基因芯片上的探针特征特别是指以 70 个碱基序列作为一个探针序列，相邻探针序列重复 25 个碱基的模式。

根据同样的选择策略，我们还设计了针对猪传染性胃肠炎病毒 (Porcine transmissible gastroenteritis virus, TGEV) 以及禽传染性气管炎病毒 (Avian infectious bronchitis virus) 的 40-100 碱基对长的病毒特异性寡核苷酸探针。这样的设计策略的目的是，在快速排查 SARS 冠状病毒的基础上可以进一步排查是否还有其它动物类型冠状病毒的感染。

本发明所描述的基因芯片的用途之一是用于检测 SARS 冠状病毒，所描述的检测对象可以包括来自人体的血液及分泌物等临床样品、动植物样品、食品水源样品以及水环境和大气环境样品等等，所描述的基因芯片的用途之二是用于监测 SARS 冠状病毒的变异和亚型，所描述的监测对象可以包括来自人体的血液及分泌物等临床样品、动植物样品、食品水源样品以及水环境和大气环境样品等等。

本发明所描述的基因芯片的用途之三是用于鉴别 SARS 冠状病毒和其它冠状病毒，所描述的鉴别对象可以包括来自人体的血液及分泌物等临床样品、动植物样品、食品水源样品以及水环境和大气环境样品等等。

附图说明 说明书附图中图 1 所示为与 SARS 相关的冠状病毒全基因组芯片点样示意图，点制规则为每条探针重复三个点，分为 5 个矩阵，每个矩阵 136 条探针，每个矩阵包括 38 个阳性坐标点，形成 25 列×14 行的点阵。每组三联点为一条探针。图中的 A 所示的灰色点为阳性坐标点，B 所示的黑色三联点为检测探针。

具体实施方式 以下实施例对本发明的与 SARS 相关的冠状病毒全基因组芯片的制备和用途作了详细说明，但并不意味着限制本发明的内容。

实施例 1 芯片的制备

探针的选取：

我们选取 SARS 冠状病毒 TOR2 株全基因组序列 (NC_004718) 为检测对象，设计相应的探针和芯片。TOR2 株全基因组序列 (NC_004718) 基因组全长 29736 碱基，从 5' 端开始，以 70 个碱基为探针标准长度，相邻探针重叠 25 个碱基。如探针 1 的首尾位置为基因组序列中第 1-70 个碱基，探针 2 的首尾位置为基因组序列中第 46-115 个碱基，探针 3 的首尾位置为基因组序列中第 91-160 个碱基，探针 4 的首尾位置为基因组序列中第 136-205 个碱基，以此类推，共得到 660 个探针，如表 1 所示，这 660 个探针覆盖了该基因组的全部序列。每条探针的 5' 端进行氨基修饰。

表 1 SARS 冠状病毒 TOR2 株全基因组探针序列

序号	序列	起始位点
sars001	CTACCCAGGAAAAGCCAAACCTCGATCTCTTGTAGATCTGTTCTCTAAACGAACCTTTAAATCTGTG	1

sars002	CTCTAAACGAACCTTTAAATCTGTGTAGCTGCTCGCTCGGCTGCATGCTAGTGCACTACGCAGTATAAA	46
sars003	GCCTAGTGACCTACGCAGTATAACAATAATAAATTTACTGTGTTGACAAGAAACGAGTAACCTGTC	91
sars004	GTTGACAAGAAACGAGTAACCTCGTCCCTCTTCTGCAGACTGCTTACGGTTTCGTCCGTGTTGCAGTCGAT	136
sars005	CGGTTTCGTCCGTGTTGCAGTCGATCATCAGCATACTAGGTTTCGTCCGGGTGTACCGAAAGGTAAGA	181
sars006	GTCGGGTGTGACCGAAAGGTAAGATGGAGAGCCTTGTCTTGGTGTCAACGAGAAAACACAGTCCAAC	226
sars007	GTCAACGAGAAAACACAGTCCAACCTCAGTTTGCTGTCTCAGTTAGAGACGTGCTAGTGGTGGCT	271
sars008	GTTAGAGACGTGCTAGTGCCTGGCTTCGGGACTCTGTGAAGAGGCCCTATCGAGGCCAGTGAACACC	316
sars009	GCCCTATCGGAGGCAGTGAACACCTCAAAAATGGCACTTGTGGTCTAGTAGAGCTGAAAAAGGCGTAC	361
sars010	CTAGTAGAGCTGAAAAAGGCGTACTGCCACAGTTGAACAGCCCTATGTGTTCAATAACGTTCTGATG	406
sars011	TATGTGTTCAATAAACGTTCTGATGCCCTAAGCACCAATCACGGCCACAAGGTCGTTGAGCTGGTTGCAG	451
sars012	CACAAGGTCGTTGAGCTGGTTGCAGAAATGGACGGCATTCACTACGGTCGTAGCGGTATAACACTGGGAG	496
sars013	GGTCGTAGCGGTATAACACTGGGAGTACTCGTGCCACATGTGGCGAAACCCCAATTGCATACCGCAATG	541
sars014	GAAACCCCAATTGCATACCGCAATGTTCTTCTCGTAAGAACGGTAATAAGGGAGCCGGTGGTCATAGCT	586
sars015	AATAAGGGAGCCGGTGGTCATAGCTATGGCATCGATCTAAAGTCTTATGACTTAGGTGACGAGCTTGCA	631
sars016	TATGACTTAGGTGACGAGCTTGGCACTGATCCCATTTGAAGATTATGAACAAACTGGAACACTAAGCATG	676
sars017	GAACAAAACCTGGAACACTAAGCATGGCAGTGGTGCATCCGTGAACCTACTCGTGAGCTCAATGGAGGTG	721
sars018	CTCACTCGTGAGCTCAATGGAGGTGCAGTCACTCGCTATGTGACAACAATTTCTGTGGCCAGATGGGT	766
sars019	AACAATTTCTGTGGCCAGATGGGTACCTCTTGATTGCATCAAGATTTTCTCGCACGCGCGGCAAGT	811
sars020	GATTTTCTCGCACGCGCGGGCAAGTCAATGTGCACTCTTCCGAACAACCTGATTACATCGAGTCGAAGA	856
sars021	CAACTTGATTACATCGAGTCGAAGAGAGGTGTCTACTGCTGCCGTGACCATGAGCATGAAATTGCCTGGT	901
sars022	GACCATGAGCATGAAATTGCCTGGTTCACTGAGCGCTCTGATAAGAGCTACGAGCACCAGACACCCCTCG	946
sars023	AGCTACGAGCACACAGACACCTTCGAAATTAAGAGTGCCAAGAAATTTGACACTTTCAAAGGGGAATGCC	991
sars024	TTTGACACTTTCAAAGGGGAATGCCCAAAGTTGTGTTTCTCTTAACCTCAAAGTCAAAGTCATTCAAC	1036
sars025	AACTCAAAGTCAAAGTCATTCAACCACGTGTTGAAAAGAAAAGACTGAGGGTTTCATGGGGCGTATAC	1081
sars026	ACTGAGGGTTTCATGGGGCGTATACGCTCTGTGTACCTGTGTCATCTCCACAGGAGTGAACAATATGC	1126
sars027	TCTCCACAGGAGTGAACAATATGCACTTGTCTACCTTGATGAAATGTAATCATTGCGATGAAGTTTCAT	1171
sars028	TGTAATCATTGCGATGAAGTTTCATGGCAGACGTGCGACTTCTGAAAGCCACTTGTGAACATTGTGGCA	1216
sars029	AAAGCCACTTGTGAACATTGTGGCACTGAAAATTTAGTTATTGAAGGACCTACTACATGTGGGTAOCTAC	1261
sars030	GGACCTACTACATGTGGGTACCTAOCCTACTAATGCTGTAGTGAATGOCATGTCTGCCTGTCAAGAAC	1306
sars031	ATGCCATGTCTGCTGTCAAGAACCCAGAGATTGGACCTGAGCATAGTGTTCAGATTATCACAAOCCACT	1351
sars032	AGTGTTCAGATTATCACAAOCCACTCAACATTGAACTCGACTCCGCAAGGGAGGTAGGACTAGATGTT	1396
sars033	CGCAAGGGAGGTAGGACTAGATGTTTGGAGGCTGTGTTTGCCATATGTTGGCTGTATAATAAGCGTG	1441
sars034	TATGTTGGCTGTATAATAAGCGTGCTACTGGGTTCTCGTGCTAGTGCTGATATTGGCTCAGGCCATA	1486
sars035	AGTGCTGATATTGGCTCAGGCCATACTGGCATTACTGGTGACAAATGTGGAGAOCTTGAATGAGGATCTCC	1531
sars036	GTGGAGACCTTGAATGAGGATCTCCTTGAGATACTGAGTCGTGAACGTGTTAACATTAACTTGTGGCG	1576
sars037	CGTGTAAACATTAACTTGTGGCGATTTTCATTTGAATGAAGAGGTGCCATCATTTTGGCATCTTTCT	1621
sars038	GTTGCCATCATTTTGGCATCTTTCTCTGCTTCTACAAGTGCCCTTATTGACACTATAAAGAGTCTTGATT	1666
sars039	ATTGACACTATAAAGAGTCTTGATTACAAGTCTTCAAAACCAATTGTTGAGTCTCGCGGTAACATAAAG	1711
sars040	GTTGAGTCTGCGGTAACATAAAGTTACCAAGGAAAGCCGTAAGAGGTGCTTGAACATTGGACAAC	1756
sars041	AAAGGTGCTTGAACATTGGACAACAGAGATCAGTTTAAACACCACTGTGTGGTTTCCCTCACAGGCTG	1801
sars042	CTGTGTGGTTTCCCTCACAGGCTGCTGGTGTATCAGATCAATTTTTCGCGCACACTTGATGCAGCAA	1846
sars043	TTTGGCGCACACTTGATGCAGCAAACCACTCAATTCCTGATTGCAAGAGCAGCTGTCAACATACTTG	1891
sars044	CAAAGAGCAGCTGTCAACATACTTGATGGTATTCTGAACAGTCATTACGTCTTGTGACGCCATGGTTT	1936
sars045	TTACGCTTGTGACGCCATGGTTTATACTTCAGACCTGCTACCAACAGTGTCAATTATTATGGCATATG	1981

sars046	AACAGTGTCAATTATTATGGCATATGTAACGGTGGTCTTGTACAACAGACTTCTCAGTGGTTGTCTAATC	2026
sars047	CAGACTTCTCAGTGGTTGTCTAATCTTTTGGGCACTACTGTGAAAACTCAGGCTATCTTTGAATGGA	2071
sars048	AAACTCAGGCTATCTTTGAATGGATTGAGGCGAACTTAGTGCAGGAGTTGAATTTCTCAAGGATGCTT	2116
sars049	GGAGTTGAATTTCTCAAGGATGCTTGGGAGATTCTCAAATTTCTCATTACAGGTGTTTTGACATCGTCA	2161
sars050	ATTACAGGTGTTTTTGACATCGTCAAGGGTCAAAATACAGGTGCTTCAGATAACATCAAGGATTGTGTAA	2206
sars051	TCAGATAACATCAAGGATTGTGTAATGCTTCATTGATGTTGTAAACAAGGCACTCGAAATGTGCATTG	2251
sars052	AACAAGGCACTCGAAATGTGCATTGATCAAGTCACTATCGCTGGCGCAAAGTTGCGATCACTCAACTTAG	2296
sars053	GCAAAGTTGCGATCACTCAACTTAGGTGAAGTCTTCATCGCTCAAAGCAAGGGACTTTACCGTCAGTGTA	2341
sars054	AGCAAGGCACTTTACCGTCAGTGATACGTGGCAAGGAGCAGCTGCAACTACTCATGCCTCTTAAGGCAC	2386
sars055	CAACTACTCATGCCTCTTAAGGCACGAAAAGAAGTAACCTTTCTGAAGGTGATTACATGACACAGTAC	2431
sars056	GAAGGTGATTACATGACACAGTACTTACCTCTGAGGAGGTGTTCTCAAGAACGGTGAACTCGAAGCAC	2476
sars057	CTCAAGAAGCGTGAACTCGAAGCACTCGAGACGCCGTTGATAGCTTCACAAATGGAGCTATCGTCGGCA	2521
sars058	TTCAAAATGGAGCTATCGTCGGCACACCAGTCTGTGTAATGGCCTCATGCTCTTAGAGATTAAGGACA	2566
sars059	CTCATGCTCTTAGAGATTAAAGACAAAGAACAATACTGCCATTGTCTCCTGGTTTACTGGCTACAAACA	2611
sars060	TCTCCTGGTTTACTGGCTACAAACAATGTCTTTCCGCTTAAAGGGGGTGCAACCAATTAAGGTGAACCT	2656
sars061	GGTGCAACCAATTAAGGTGTAACCTTTGAGAAGATACTGTTTGGGAAGTTCAAGGTTACAAGAATGTGA	2701
sars062	GAAAGTTCAAGGTTACAAGAATGTGAGAATCACATTTGAGCTTGATGAACGTGTGACAAAGTCTTAATG	2746
sars063	GAAAGTTGACAAAGTGTCTTAATGAAAAGTCTGTCTACACTGTTGAATCCGGTACCGAAGTTACTG	2791
sars064	GTTGAATCCGGTACCGAAGTTACTGAGTTGCATGTGTGTAGCAGAGGCTGTTGTGAAGACTTTACAAC	2836
sars065	GAGGCTGTGTGAAGACTTTACAACAGTTTCTGATCTCCTTAACACATGGGTATTGATCTTGATGAGT	2881
sars066	AACATGGGTATTGATCTTGATGAGTGGAGTGTAGCTACATTCTACTTATTGATGATGCTGGTGAAGAAA	2926
sars067	TTATTTGATGATGCTGGTGAAGAAAATTTTCATCACGTATGTATTGTTCCCTTTACCTCCAGATGAGG	2971
sars068	TGTTCCCTTTACCTCCAGATGAGGAAGAAGAGGACGATGCAGAGTGTGAGGAAGAAGAAATTGATGAAA	3016
sars069	TGTGAGGAAGAAGAAATTGATGAAACCTGTGAACATGAGTACGGTACAGAGGATGATTATCAAGGTCTCC	3061
sars070	ACAGAGGATGATTATCAAGGTCTCCTCTGGAATTTGGTGCTCAGCTGAAACAGTTCGAGTTGAGGAAG	3106
sars071	GCTGAAACAGTTTCGAGTTGAGGAAGAAGAAGAGGAAGACTGGCTGGATGATACTACTGAGCAATCAGAGA	3151
sars072	GATGATACTACTGAGCAATCAGAGATTGAGCCAGAACCCAGAACCTACACCTGAAGAACAGTTAATCAGT	3196
sars073	ACACCTGAAGAACCAGTTAATCAGTTTACTGGTTATTTAAACTTACTGACAATGTTGCCATTAAATGTG	3241
sars074	ACTGACAATGTTGCCATTAAATGTGTTGACATCGTTAAGGAGGCACAAAGTGCTAATCCTATGGTGATTG	3286
sars075	CAAAGTGCTAATCCTATGGTGATTGTAATGTCTGCTAACATACACCTGAAACATGGTGGTGGTGTAGCAG	3331
sars076	CTGAACATGGTGGTGGTGTAGCAGGTGCACTCAACAAGGCAACCAATGGTGCCATGCAAAAGGAGAGTG	3376
sars077	AATGGTGCCATGCAAAAGGAGAGTGATGATTACATTAAGCTAAATGGCCCTCTTACAGTAGGAGGGTCTT	3421
sars078	GGCCCTCTTACAGTAGGAGGGTCTTGTGTTGCTTTCTGGACATAATCTTGCTAAGAAGTGTCTGCATGTTG	3466
sars079	CTTGCTAAGAAGTGTCTGCATGTTGTTGGACCTAACCTAAATGCAGGTGAGGACATCCAGCTTCTTAAGG	3511
sars080	GGTGAGGACATCCAGCTTCTTAAGGCAGCATATGAAAAATTTCAATTCACAGGACATCTTACTTGCAACAT	3556
sars081	TCACAGGACATCTTACTTGCAACATTGTTGTGTCAGCAGGCATATTTGGTGCTAAACCACTTCAGTCTTTAC	3601
sars082	GGTGCTAAACCACTTCAGTCTTTACAAGTGTCCGTGCAGACGGTTCGTACACAGGTTTATATTGCAGTCA	3646
sars083	CGTACACAGGTTTATATTGCAGTCAATGACAAAGCTCTTTATGAGCAGGTGTCATGGATTATCTTGATA	3691
sars084	CAGGTTGTCATGGATTATCTTGATAAAGCTGAAGCCTAGAGTGGAAGCACCTAAACAAGAGGAGCCACCA	3736
sars085	GCACTAAACAAGAGGAGCCACCAACACAGAAGATTCCAAACTGAGGAGAAATCTGTGTCAGAGAAGC	3781
sars086	GAGGAGAAATCTGCTGACAGAAGCCTGTGATGTGAAGCCAAAAATTAAGGCCTGCATTGATGAGGTTA	3826
sars087	ATTAAGGCCTGCATTGATGAGGTTACCACAACCTGGAAGAACTAAGTTTCTTACCAATAAGTTACTCT	3871
sars088	AAGTTTCTTACCAATAAGTTACTCTGTTGCTGATATCAATGGTAAGCTTTACCATGATTCTCAGAACA	3916
sars089	AAGCTTTACCATGATTCTCAGAACATGCTTAGAGGTGAAGATATGCTTTCCCTTGAGAAGGATGCACTT	3961

sars090	TCTTTCCTTGAGAAGGATGCACCTTACATGGTAGGTGATGTTATCACTAGTGGTATATCACTTGTGTTG	4006
sars091	ACTAGTGGTGATATCACTTGTGTTGTAATACCCGCCAAAAAGGCTGGTGGCACTACTGAGATGCTCTCAA	4051
sars092	GGTGGCACTACTGAGATGCTCTCAAGAGCTTTGAAGAAAGTCCAGTTGATGAGTATATAACCAAGTACC	4096
sars093	GTTGATGAGTATATAACCAAGTACCCGGACAAGGATGTGCTGGTTATACACTTGAGGAAGCTAAGACTG	4141
sars094	TATACACTTGAGGAAGCTAAGACTGCTCTTAAGAAATGCAAACTGCAATTTATGTAACCTTCAGAAG	4186
sars095	GCATTTTATGTACTACCTTCAGAAGCACTAATGCTAAGGAAGAGATTCTAGGAACGTATCCTGGAATT	4231
sars096	ATTCTAGGAACGTATCCTGGAATTTGAGAGAAATGCTTGCTCATGCTGAAGAGACAAGAAAATTAATGC	4276
sars097	GCTGAAGAGACAAGAAAATTAATGCCTATATGCATGGATGTTAGAGCCATAATGGCAACCATCCAACGTA	4321
sars098	GCCATAATGGCAACCATCCAACGTAAGTATAAAGGAATTAATAATCAAGAGGGCATCGTTGACTATGGTG	4366
sars099	CAAGAGGGCATCGTTGACTATGGTGTCCGATTCTCTTTTATAGTAAAGAGCCTGTAGCTTCTATTA	4411
sars100	AGTAAAGAGCCTGTAGCTTCTATTATTACGAAGCTGAACCTCTCTAAATGAGCCGCTGTGCACAAATGCCAA	4456
sars101	AATGAGCCGCTGTGCACAAATGCCAATTGGTTATGTGACACATGGTTTAAATCTTGAGAGGCTGCGCGCT	4501
sars102	TTTAATCTTGAAGAGGCTGCGCGCTGTATGCGTTCTCTTAAGCTCCTGCCGTAGTGCAGTATCATCAC	4546
sars103	CCTGCCGTAGTGTGAGTATCATCACCAGATGCTGTTACTACATATAATGGATACCTCACTTCGTCATCAA	4591
sars104	AATGGATACCTCACTTCGTCATCAAGACATCTGAGGAGCACTTTGTAGAAACAGTTTCTTTGGCTGGCT	4636
sars105	GTAGAAACAGTTTCTTTGGCTGGCTCTACAGAGATTGGTCTATTCAAGACAGCGTACAGAGTTAGGTG	4681
sars106	TCAGGACAGCGTACAGAGTTAGGTGTTGAATTTCTTAAGCGTGGTGACAAAATGTGTACCACACTCTGG	4726
sars107	GACAAAATGTGTACACACTCTGGAGAGCCCGTGAAGTTTCATCTTGACGGTGAGGTCTTTCACTTG	4771
sars108	CTTGACGGTGAGGTCTTTCACTTGACAACTAAGAGTCTCTTATCCCTGCGGGAGGTTAAGACTATAA	4816
sars109	TCCTGCGGGAGGTTAAGACTATAAAGTGTTCAAACTGTGGACAACACTAATCTCCACACACAGCTTG	4861
sars110	AACACTAATCTCCACACACAGCTTGTGGATATGTCTATGACATATGGACAGCAGTTTGGTCCACATACT	4906
sars111	GGACAGCAGTTTGGTCCACATACTTGGATGGTGTGATGTTACAAAATTAACCTCATGTAAATCATG	4951
sars112	AAAATTAACCTCATGTAAATCATGAGGGTAAGACTTTCTTTGTAACCTAGTGATGACACACTAOGTA	4996
sars113	CTACCTAGTGATGACACACTACGTAGTGAAGCTTTCGAGTACTACCATACTCTTGATGAGAGTTTCTTG	5041
sars114	CATACTCTTGATGAGAGTTTCTTTGGTAGGTACATGTCTGCTTTAAACCACACAAAGAAATGGAAATTC	5086
sars115	AACCACACAAAGAAATGGAAATTTCTCAAGTTGGTGGTTAACTTCAATTAATGGGCTGATAACAATT	5131
sars116	TCAATTAATGGGCTGATAACAATTTGTTATTTGTCTAGTGTTTATTAGCACTTCAACAGCTTGAAGTCA	5176
sars117	TTAGCACTTCAACAGCTTGAAGTCAAATTCATGCACCAGCACTTCAAGAGGCTTATTATAGAGCCGCTG	5221
sars118	CAAGAGGCTTATTATAGAGCCGCTGCTGGTGTGCTGCTAACTTTTGCACTCATCTCGCTTACAGTA	5266
sars119	TGTGCACTCATCTCGCTTACAGTAATAAACTGTTGGCGAGCTTGGTGTGTCAGAGAACTATGAOCC	5311
sars120	GGTGATGTCAGAGAACTATGACCCATCTTCTACAGCATGCTAATTTGGAATCTGCAAAGCGAGTTCTTA	5356
sars121	TTGGAATCTGCAAAGCGAGTTCTTAATGTGGTGTGTAACATTTGGTGCAGAAACTACTACCTTAAOGG	5401
sars122	GGTCAGAAACTACTACCTTAACGGGTGTAGAAGCTGTGATGTATATGGGTACTCTATCTTATGATAATC	5446
sars123	ATGGGTACTCTATCTTATGATAATCTTAAGACAGGTGTTTCCATTCCATGTGTGTGGTGTGATGCTA	5491
sars124	CCATGTGTGTGTGGTGTGATGCTACACAATATCTAGTACAACAAGAGTCTTCTTTTGTATGATGTCTG	5536
sars125	GAGTCTTCTTTTGTATGATGTCTGCACCACCTGCTGAGTATAAATTACAGCAAGGTACATTCTTATGTG	5581
sars126	TTACAGCAAGGTACATTCTTATGTGCGAATGAGTACACTGGTAACATACAGTGTGGTCATTACACTCATA	5626
sars127	TATCAGTGTGGTCATTACACTCATATAACTGCTAAGGAGACCCCTATCGTATTGACGGAGCTCAOCTTA	5671
sars128	TATCGTATTGACGGAGCTCACCTTACAAAGATGTCAGAGTACAAAGGACCAGTGAAGTATTTTCTACA	5716
sars129	GGACAGTGAAGTATGTTTCTACAAGGAACATCTTACACTACAACCATCAAGCCTGTGCTGATAAAC	5761
sars130	ACCATCAAGCCTGTGTGCTATAAACTCGATGGAGTTACTTACACAGAGATTGAACCAAAATTTGGATGGGT	5806
sars131	GAGATTGAACCAAAATTTGGATGGGTATTATAAAAAGGATAATGCTTACTATACAGAGCAGCCTATAGACC	5851
sars132	TACTATACAGAGCAGCCTATAGACCTTGTACCAACTCAACCATTAACCAATGCGAGTTTGTATAATTCA	5896
sars133	CCAAATGCGAGTTTGTATAATTTCAAACCTCACATGTTCTAACACAAAATTTGCTGATGATTTAAATCAAA	5941

sars134	AAATTGCTGATGATTTAAATCAAATGACAGGCTTCACAAAGCCAGCTTCACGAGAGCTATCTGTACAT	5986
sars135	GCTTCACGAGAGCTATCTGTACATTCTTCCCAGACTTGAATGGCGATGTAGTGGCTATTGACTATAGAC	6031
sars136	GATGTAGTGGCTATTGACTATAGACACTATTAGCGAGTTTCAAGAAAGGTGCTAAATTACTGCATAAGC	6076
sars137	AAAGTGCTAAATTAAGTGCATAAGCCAATTGTTTGGCACATTAACCAGGCTACAACCAAGACAACGTTCA	6121
sars138	CAGGCTACAACCAAGACAACGTTCAAACCAAACTTGGTGTTTACGTTGCTTTGGAGTACAAGCCAG	6166
sars139	CGTTGCTTTGGAGTACAAGCCAGTAGATACTTCAAATTCATTGAAGTCTGGCAGTAGAAGACACAC	6211
sars140	GAAGTTCTGGCAGTAGAAGACACACAAGGAATGGACAATCTTGCTGTGAAAGTCAACAACCCACCTCTG	6256
sars141	TGTGAAAGTCAACAACCCACCTCTGAAGAAGTAGTGGAAAATCCTACCATACAGAAGGAAGTCATAGAGT	6301
sars142	ACCATACAGAAGGAAGTCATAGAGTGTGACGTGAAAACCTACCGAAGTTGTAGGCAATGTCATACTTAAAC	6346
sars143	GTTGTAGGCAATGTCATACTTAAACCATCAGATGAAGGTGTTAAAGTAACACAAGAGTTAGGTCATGAGG	6391
sars144	GTAACACAAGAGTTAGGTCATGAGGATCTTATGGCTGCTTATGTGAAAACACAAGCATTACCATTAAAG	6436
sars145	GAAAACACAAGCATTACCATTAAAGAACTAATGAGCTTCTACTAGCCTTAGGTTTAAAAACAATTGCCA	6481
sars146	GCCTTAGGTTTAAAAACAATTGCCACTCATGGTATTGCTGCAATTAATAGTGTTCCTTGGAGTAAAAATTT	6526
sars147	AATAGTGTTCCTGGAGTAAAAATTTGGCTTATGTCAAACCATCTTAGGACAAGCAGCAATTACAACAT	6571
sars148	TTAGGACAAGCAGCAATTACAACATCAAATTGGCGTAAGAGATTAGCACAACGTGTGTTAACAATTATA	6616
sars149	GCACAACGTGTGTTTAAACAATTATATGCCTTATGTGTTTACATTATTGTTCCAATTGTGTACTTTTACTA	6661
sars150	TTGTTCCAATTGTGTACTTTTACTAAAAGTACCAATTCTAGAATTAGAGCTTCACTACCTACAACATTG	6706
sars151	AGAGCTTCACTACCTACAACATTGCTAAAAATAGTGTTAAGAGTGTGCTAAATTATGTTTGGATGCCG	6751
sars152	GTTGCTAAATTATGTTTGGATGCCGGCATTAAATTATGTGAAGTCAOCCAAATTTTCTAAATTGTTCAAA	6796
sars153	CCCAATTTTCTAAATTGTTTCAAAATCGCTATGTGGCTATTGTTTAAAGTATTGCTTAGGTTCTCTAA	6841
sars154	TTAAGTATTGCTTAGGTTCTCTAATCTGTGTAAGTGTGCTTTGGTGACTCTTATCTAATTTTGGTG	6886
sars155	GGTGTACTCTTATCTAATTTTGGTGCTCCTTCTTATTGTAATGCCGTTAGAGAATTGTATCTTAATTCGT	6931
sars156	GTTAGAGAATTGTATCTTAATTCGTCTAACGTTACTACTATGGATTCTGTGAAGGTTCTTTTCTTGGCA	6976
sars157	TTCTGTGAAGGTTCTTTTCTTGCAGCATTGTTTAAAGTGGATTAGACTCCCTTGATTCTTATCCAGCTC	7021
sars158	GACTCCCTTGATTCTTATCCAGCTCTTGAAACCATTCAGGTGACGATTTTCATCGTACAAGCTAGACTTGA	7066
sars159	ATTTTCATCGTACAAGCTAGACTTGACAATTTTAGGCTCGCCGCTGAGTGGGTTTTGGCATATATGTTGT	7111
sars160	GAGTGGGTTTTGGCATATATGTTGTTCAAAAAATCTTTTATTATTAGGTCTTTCAGCTATAATGCAGG	7156
sars161	TTAGGCTTTTCAGCTATAATGCAGGTGTTCTTTGGCTATTTTGTAGTCATTTTCATCAGCAATTTCTGGC	7201
sars162	AGTCAATTTTCATCAGCAATTTCTGGCTCATGTGGTTTATCATTAGTATTGTACAAATGGCACCCGTTCTG	7246
sars163	ATTGTACAAATGGCACCCGTTTCTGCAATGGTTAGGATGTACATCTTCTTTGCTTCTTCTACTACATAT	7291
sars164	TTCTTTGCTTCTTTCTACTACATATGGAAGAGCTATGTTTCATATCATGGATGGTTGCACCTCTTCGACTT	7336
sars165	ATGGATGGTTGCACCTCTTCGACTTGCAATGATGTGCTATAAGCGCAATCGTGCACACGCGTTGAGTGTA	7381
sars166	AATCGTGCCACACCGGTTGAGTGTACAACATTTGTTAATGGCATGAAGAGATCTTTCTATGTCTATGCAA	7426
sars167	AAGAGATCTTTCTATGTCTATGCAAATGGAGGCGGCTTCTGCAAGACTCACAATTGGAATTGTCTCA	7471
sars168	AAGACTCACAATTGGAATTGTCTCAATTGTGACACATTTTGCAGTGGTAGTACATTCATTAGTGATGAAG	7516
sars169	GGTAGTACATTCATTAGTGATGAAGTTGCTCGTGATTGTGCACTCCAGTTTAAAGACCAATCAAOCTTA	7561
sars170	CAGTTTAAAGACCAATCAAOCTTACTGACCAAGTCATCGTATATTGTTGATAGTGTGCTGTGAAAAATG	7606
sars171	GTTGATAGTGTGCTGTGAAAAATGGCGCGCTTCACTCTACTTTGACAAGGCTGGTCAAAAGACCTATG	7651
sars172	GACAAGGCTGGTCAAAAGACCTATGAGAGACATCCGCTCTCCATTTTGTCAATTTAGACAATTTGAGAG	7696
sars173	TTTGTCAATTTAGACAATTTGAGAGCTAACAACTAAAGGTTCACTGCCTATTAATGTCATAGTTTTTG	7741
sars174	CTGCCTATTAAATGTCATAGTTTTTGATGGCAAGTCCAAATGCGACGAGTCTGCTTCTAAGTCTGCTTCTG	7786
sars175	GAGTCTGCTTCTAAGTCTGCTTCTGTGTAAGTACAGTCAAGTGTGATGTCACCACTATTCTGTTGCTTGACC	7831
sars176	TGCCAACCTATTCTGTGCTTGACCAAGCTCTGTATCAGACGTTGGAGATAGTACTGAAGTTTCCGTTA	7876
sars177	GGAGATAGTACTGAAGTTTCCGTTAAGATGTTGATGCTTATGTCGACACCTTTTCAGCAACTTTTAGTG	7921

sars178	GACACCTTTTCAGCAACTTTTAGTGTTCCTATGGA AAAA CTTAAGGCACCTGTTGCTACAGCTCACAGCG	7966
sars179	GCACCTGTTGCTACAGCTCACAGCGAGTTAGCAAAGGGTGTAGCTTTAGATGGTGTCTTTCTACATTGG	8011
sars180	TTAGATGGTGTCTTTCTACATTGCTGTGCTGAGTGGCGACAAGGTGTTGTTGATACGATGTTGACACAA	8056
sars181	GTTGTTGATAOCGATGTTGACACAAAGGATGTTATTGAATGTCTCAAACCTTCACATCACTCTGACTTAG	8101
sars182	AACTTTCACATCACTCTGACTTAGAAGTGACAGGTGACAGTTGTAACAATTCATGCTCACCTATAATA	8146
sars183	AACAATTCATGCTCACCTATAATAAGGTTGAAAACATGACGCCAGAGATCTTGGCGCATGTATTGACT	8191
sars184	AGAGATCTTGGCGCATGTATTGACTGTAATGCAAGGCATATCAATGCCCAAGTAGCAAAAAGTCACAATG	8236
sars185	GCCCAAGTAGCAAAAAGTCACAATGTTTCACTCATCTGGAATGTAAAAGACTACATGTCTTTATCTGAAC	8281
sars186	AAAGACTACATGTCTTTATCTGAACAGCTGCGTAAACAAATTCGTAGTGTGCCAAGAAGAACATAC	8326
sars187	AGTGTGCCAAGAAGAACATACCTTTTAGACTAACTTGTGCTACAAC TAGACAGGTTGTCAATGTCA	8371
sars188	ACAAC TAGACAGGTTGTCATGTCTAATACTACTAAAACTCACTCAAGGGTGGTAAGATTGTTAGTACTT	8416
sars189	AAGGGTGGTAAGATTGTTAGTACTTGTTTTAACTTATGCTTAAGGCCACATTATTGTGCGTTCTTGCTG	8461
sars190	GCCACATTATTGTGCGTTCTTGCTGCATTGGTTTGTATATCGTTATGCCAGTACATACATTGTCAATCC	8506
sars191	ATGCCAGTACATACATTGTCAATCCATGATGGTTACACAAATGAAATCATTGGTTACAAAGCCATTCAGG	8551
sars192	ATCATTGGTTACAAAGCCATTCAGGATGGTGTCACTCGTGACATCTTCTACTGATGATTGTTTGGCAA	8596
sars193	ATTCTACTGATGATTGTTTGGCAAATAACATGCTGGTTTTCACGCATGGTTTAGCCAGCGTGGTGGTT	8641
sars194	GCATGGTTTAGCCAGCGTGGTGGTTCATACAAAATGACAAAAGCTGCCCTGTAGTAGCTGCTATCATT	8686
sars195	TGCCCTGTAGTAGCTGCTATCATTACAAGAGAGATTGGTTTCATAGTGCTGGCTTACCGGGTACTGTGC	8731
sars196	GTGCTGGCTTACCGGGTACTGTGCTGAGAGCAATCAATGGTGACTTCTTGCAATTTCTACCTCGTGT	8776
sars197	TTCTTGCATTTTCTAOCCTGTTTATTAGTGCTGTTGGCAACATTGCTACACACCTTCCAACTCATTG	8821
sars198	TGCTACACACCTTCCAACTCATTGAGTATAGTGATTTTGCTACCTTGCTTGGCTTCTTGCTGCTGAGT	8866
sars199	TCTGCTTGGCTTCTTGCTGCTGAGTGACAAATTTTAAGGATGCTATGGGCAACCTGTGCCATATTGTT	8911
sars200	ATGGGCAAACTGTGCCATATTGTTATGACACTAATTTGCTAGAGGGTCTATTTCTTATAGTGAGCTTC	8956
sars201	GGTTCTATTCTTATAGTGAGCTTCGTCCAGACACTCGTTATGTGCTTATGGATGGTTCCATCATACACT	9001
sars202	CTTATGGATGGTTCCATCATACAGTTTCTTAACACTTACCTGGAGGGTCTGTTAGAGTAGTAACAACCT	9046
sars203	GGTTCTGTTAGAGTAGTAACAACCTTTTGATGCTGAGTACTGTAGACATGGTACATGCGAAAGGTCAGAAG	9091
sars204	CATGGTACATGCGAAAGGTCAGAAGTAGGTAATTTGCCTATCTACCAAGTGGTAGATGGGTTCTTAATAATG	9136
sars205	AGTGGTAGATGGGTTCTTAATAATGACATTACAGAGCTCTATCAGGAGTTTCTGTGGTGTGATGCGA	9181
sars206	GGAGTTTTCTGTGGTGTGATGCGATGAATCTCATAGCTAACATCTTTACTCCTCTTGTCACCTGTGG	9226
sars207	TTTACTCCTCTTGTCACCTGTGGGTGCTTTAGATGTGTCTGCTTCACTAGTGGCTGGTGGTATTATTG	9271
sars208	TCAGTAGTGGCTGGTGGTATTATTGCCATATTGGTACTGTGCTGCCTACTACTTTATGAAATTCAGAC	9316
sars209	GCCTACTACTTTATGAAATTCAGACGTGTTTTTGGTGAGTACAACCATGTTGTTGCTGCTAATGCACCTT	9361
sars210	CATGTTGTTGCTGCTAATGCACCTTTGTTTTTGTATGTCTTCACTATACTGTCTGGTACCAGCTTACA	9406
sars211	ATACTCTGTCTGGTACCAGCTTACAGCTTCTGCGGGAGTCTACTCAGTCTTTACTTGTACTTGACAT	9451
sars212	TCAGTCTTTTACTTGTACTTGACATTCTATTTCACCAATGATGTTTCATTCTTGGCTCACCTTCAATGGT	9496
sars213	TCATTCTTGGCTCACCTTCAATGGTTTGCCATGTTTTCTCCTATTGTGCCCTTTTGGATAACAGCAATCT	9541
sars214	GTGCCCTTTTGGATAACAGCAATCTATGTATTCTGTATTCTCTGAAGCACTGCCATTGGTTCTTTAACA	9586
sars215	AAGCACTGCCATTGGTTCTTTAACAACATCTTAGGAAAAGAGTCATGTTAATGGAGTTACATTTAGTA	9631
sars216	ATGTTTAATGGAGTTACATTTAGTAACCTTCGAGGAGGCTGCTTTGTGTACCTTTTGTCTAACAAGGAAA	9676
sars217	TGTACCTTTTGTCTAACAAGGAAATGTACCTAAAAATTGCGTAGCGAGACACTGTTGCCACTTACACAGT	9721
sars218	GAGACACTGTTGCCACTTACACAGTATAACAGGTATCTTGCTCTATATAACAAGTACAAGTATTTCAGTG	9766
sars219	TATAACAAGTACAAGTATTTCAGTGGAGCCTTAGATACTACCAGCTATCGTGAAGCAGCTTGCTGCCACT	9811
sars220	TATCGTGAAGCAGCTTGCTGCCACTTAGCAAAGGCTCTAAATGACTTTAGCAACTCAGGTGCTGATGTT	9856
sars221	TTTAGCAACTCAGGTGCTGATGTTCTCTACCAACCAACACAGACATCAATCACTTCTGCTGTTCTGCAGA	9901

sars222	TCAATCACTTCTGCTGTTCTGCAGAGTGGTTTATAGGAAAATGGCATTCCCGTCAGGCAAAGTTGAAGGGT	9946
sars223	TTCCCGTCAGGCAAAGTTGAAGGGTGCATGGTACAAGTAACCTGTGGAACACAACCTCTTAATGGATTGT	9991
sars224	GGAACTACAACCTCTTAATGGATTGTGGTTGGATGACACAGTATACTGTCCAAGACATGTCATTGACACAG	10036
sars225	TGTOCAAGACATGTCATTGTCACAGCAGAAGACATGCTTAATCCTAACTATGAAGATCTGCTCATTCGCA	10081
sars226	AACTATGAAGATCTGCTCATTGCGAAATCCAACCATAGCTTTCTTGTTCAGGCTGGCAATGTTCAACTTC	10126
sars227	GTTCAGGCTGGCAATGTTCAACTTCGTGTTATTGGCCATTCTATGCAAAATTGTCTGCTTAGGCTTAAAG	10171
sars228	CAAAATTGTCTGCTTAGGCTTAAAGTTGATACTTCTAACCTAAGACACCCAAGTATAAATTTGTCGTA	10216
sars229	ACACCAAGTATAAATTTGTCGATCCAACCTGGTCAAACATTTTCAGTTCTAGCATGCTACAATGGTT	10261
sars230	TCAGTTCTAGCATGCTACAATGGTTCACCATCTGGTGTATCAGTGTGCCATGAGACCTAATCATACCA	10306
sars231	TGTGCCATGAGACCTAATCATACCATTAAGGTTCTTTCCTTAATGGATCATGTGGTAGTGTGGTTTTA	10351
sars232	GGATCATGTGGTAGTGTGGTTTTAACATTGATTATGATTGCGTGTCTTCTGCTATATGCATCATATGG	10396
sars233	TCTTTCTGCTATATGCATCATATGGAGCTTCCAACAGGAGTACACGCTGGTACTGACTTAGAAGGTAAT	10441
sars234	GCTGGTACTGACTTAGAAGGTAAATTTCTATGGTCCATTTGTTGACAGACAACTGCACAGGCTGCAGGTA	10486
sars235	AGACAACTGCACAGGCTGCAGGTACAGACACAACCATTAATTAATGTTTTGGCATGGCTGTATGCTG	10531
sars236	AATGTTTTGGCATGGCTGTATGCTGCTTTATCAATGGTGATAGGTGGTTTCTTAATAGATTACCCACTA	10576
sars237	TGGTTTCTTAATAGATTCACCACTACTTTGAATGACTTTAACCTTGTGGCAATGAAGTACAACATGAAC	10621
sars238	GTGGCAATGAAGTACAACATGAACCTTTGACACAAGATCATGTTGACATATTGGGACCTCTTCTGCTC	10666
sars239	GACATATTGGGACCTCTTCTGCTCAAACAGGAATTGCCGCTTAGATATGTGTGCTGCTTTGAAAGAGC	10711
sars240	GATATGTGTGCTGCTTTGAAAGAGCTGCTGCAGAATGGTATGAATGGTCGTACTATCCTTGGTAGCACTA	10756
sars241	GGTCGTACTATCCTTGGTAGCACTATTTAGAAAGATGAGTTACACCATTTGATGTTGTAGACAATGCT	10801
sars242	CCATTTGATGTTGTTAGACAATGCTCTGGTGTACCTTCCAAGGTAAGTTCAAGAAAATTGTTAAGGGCA	10846
sars243	AAGTTCAAGAAAATTGTTAAGGGCACTCATATTGGATGCTTTTAACCTTCTTGACATCACTATTGATTTC	10891
sars244	ACTTCTTGACATCACTATTGATTCTTGTTCAAAGTACACAGTGGTCACTGTTTTTCTTTGTTTACGAGA	10936
sars245	TCAGTGTTTTCTTTGTTTACGAGAATGCTTTCTTGCCATTACTCTTGGTATTATGGCAATTGCTGCAT	10981
sars246	CTTGGTATTATGGCAATTGCTGCATGTGCTATGCTGCTTGTAAAGCATAAGCAOGCATTCTTGTGCTGT	11026
sars247	CATAAGCACGCATTCTTGTGCTGTTTCTGTTACCTTCTCTGCAACAGTTGCTTACTTTAATATGGTCT	11071
sars248	ACAGTGTCTTACTTTAATATGGTCTACATGCCTGCTAGCTGGGTGATGCGTATCATGACATGGCTTGAAT	11116
sars249	ATGCGTATCATGACATGGCTTGAATTGGCTGACACTAGCTTGTCTGGTTATAGGCTTAAGGATTGTGTTA	11161
sars250	GGTTATAGGCTTAAGGATTGTGTTATGTATGCTTCAGCTTTAGTTTTGCTTATTCTCATGACAGCTCGCA	11206
sars251	TTGCTTATTCTCATGACAGCTCGCACTGTTTATGATGATGCTGTAGACGTGTTGGACACTGATGAATG	11251
sars252	AGACGTGTTTGACACTGATGAATGTCATTACACTTGTTTACAAAGTCTACTATGGTAATGCTTTAGATC	11296
sars253	GCTACTATGGTAATGCTTTAGATCAAGCTATTTCCATGTGGGCCTTAGTATTCTGTAACTCTAACT	11341
sars254	TTAGTTATTTCTGTAACCTCTAACTATTCTGGTGTGTTACGACTATCATGTTTTAGCTAGAGCTATAG	11386
sars255	ATCATGTTTTAGCTAGAGCTATAGTGTGTTGTGTGTTGAGTATTACCCATTGTTATTTATTACTGGCA	11431
sars256	TACCCATTGTTATTTATTACTGGCAACACCTTACAGTGTATCATGCTTGTATTGTTTCTTAGGCTATT	11476
sars257	CTTGTTATTGTTTCTTAGGCTATTGTTGCTGCTGCTACTTTGGCCTTTTCTGTTTACTCAACCGTTACT	11521
sars258	CTTTCTGTTTACTCAACCGTTACTTACGGCTTACTCTTGGTGTATGACTACTTGGTCTCTACACAAG	11566
sars259	TATGACTACTTGGTCTCTACACAAGAATTTAGGTATATGAACTCCAGGGGCTTTGGCTCCTAAGAGTA	11611
sars260	CAGGGGCTTTTGCTCCTAAGAGTAGTATTGATGCTTCAAGCTTAACATTAAGTTGTTGGGTATTGGAG	11656
sars261	AACATTAAGTTGTTGGGTATTGGAGGTAAACCATGTATCAAGGTGCTACTGTACAGTCTAAAATGCTG	11701
sars262	GCTACTGTACAGTCTAAAAATGTCGACGTAAGTGCACATCTGTGGTACTGCTCTCGGTTCTTCAACAAC	11746
sars263	GTAAGTCTCGGTTCTTCAACAACCTTAGAGTAGAGTCATCTTCAAATTTGTTGGGCACAATGTTGTACAAC	11791
sars264	AAATTGTGGGCACAATGTGTACAACCTCCACAATGATATTCTTCTTGCAAAAGACACAACCTGAAGCTTTG	11836
sars265	GCAAAAGACACAACCTGAAGCTTTGAGAAGATGGTTTCTTTTGTCTGTTTGTCTATCCATGCAGGGTG	11881

sars266	TCTGTTTTGCTATCCATGCAGGGTCTGTAGACATTAATAGTTGTGCGAGGAAATGCTCGATAACCGTG	11926
sars267	TGCGAGGAAATGCTCGATAACCGTGCTACTCTTCAGGCTATTGCTTCAGAAATTTAGTTCTTTACCATCAT	11971
sars268	TCAGAAATTTAGTTCTTTACCATCATATGCGGCTTATGCCACTGCCAGGAGGCCTATGAGCAGGCTGTAG	12016
sars269	CAGGAGGCCTATGAGCAGGCTGTAGCTAATGGTGATTCTGAAGTCGTTCTCAAAAAGTTAAAGAAATCTT	12061
sars270	GTTCTCAAAAAGTTAAAGAAATCTTTGAATGTGGCTAAATCTGAGTTTGACCGTGATGCTGCCATGCAAC	12106
sars271	TTTGACCGTGATGCTGCCATGCAACGCAAGTTGGAAAAGATGGCAGATCAGGCTATGACCCAAATGTACA	12151
sars272	GATCAGGCTATGACCCAAATGTACAAACAGGCAAGATCTGAGGACAAGAGGGCAAAAGTAACTAGTGCTA	12196
sars273	AAGAGGGCAAAAGTAACTAGTGCTATGCAACAATGCTCTTCACTATGCTTAGGAAGCTTGATAATGATG	12241
sars274	ATGCTTAGGAAGCTTGATAATGATGCACTTAACAACATTATCAACAATGCCGCTGATGGTTGTGTTCCAC	12286
sars275	AATGCGCGTGATGGTTGTGTTCCACTCAACATCATACCAATTGACTACAGCAGCCAAACTCATGGTTGTTG	12331
sars276	ACAGCAGCCAAACTCATGGTTGTTGTCCTGATTATGGTACCTACAAGAACACTTGTGATGGTAACACCT	12376
sars277	AAGAACACTTGTGATGGTAACACCTTTACATATGCATCTGCACTCTGGGAAATCCAGCAAGTTGTTGATG	12421
sars278	TGGGAAATCCAGCAAGTTGTTGATGCGGATAGCAAGATTGTTCAACTTAGTGAAATTAACATGGACAATT	12466
sars279	CTTAGTGAAATTAACATGGACAATTACCAAAATTTGGCTTGGCCTCTTATTGTTACAGCTCTAAGAGCCA	12511
sars280	CTTATTGTTACAGCTCTAAGAGCCAACTCAGCTGTTAAACTACAGAATAATGAACTGAGTCCAGTAGCAC	12556
sars281	AATAATGAACTGAGTCCAGTAGCACTACGACAGATGTCTGTGCGGCTGGTACCACACAACAGCTTGTA	12601
sars282	GCTGGTACCACACAACAGCTTGACTGATGACAATGCACCTTGCTACTATAACAATTCGAAGGAGGTA	12646
sars283	TACTATAACAATTCGAAGGAGGTAGGTTTGTGCTGGCATTACTATCAGACCACCAAGATCTCAAAATGGG	12691
sars284	TCAGACCAAGATCTCAAAATGGGCTAGATTCCCTAAGAGTGATGGTACAGGTACAATTTACACAGAAC	12736
sars285	GGTACAGGTACAATTTACACAGAAGTGAACACCTTTGTAGGTTTGTACAGACACACCAAAAGGGCCTA	12781
sars286	GTTACAGACACACCAAAAGGGCCTAAAGTGAAATACTTGTACTTCATCAAAGGCTTAACAACCTAAATA	12826
sars287	ATCAAAGGCTTAACAACCTAAATAGAGGTATGGTGCTGGGCAGTTTAGCTGCTACAGTACGCTTTCAGG	12871
sars288	TTAGCTGCTACAGTACGCTCTTCAGGCTGGAAATGCTACAGAAGTACCTGCCAATTCAACTGTGCTTTCCT	12916
sars289	CCTGCCAATTCAACTGTGCTTTCCTTCTGTGCTTTTGCAGTAGACCCCTGCTAAAGCATATAAGGATTACC	12961
sars290	CCTGCTAAAGCATATAAGGATTACCTAGCAAGTGAGGACAACCAATCACCAACTGTGTGAAGATGTTGT	13006
sars291	ATCAOCAACTGTGTGAAGATGTTGTGTACACACTGGTACAGGACAGGCAATTAATGTAACACCAGAAG	13051
sars292	CAGGCAATTACTGTAAACACCAGAAGCTAACATGGACCAAGAGTCTTTGGTGGTGCTTCATGTTGTCTGT	13096
sars293	TTTGGTGGTGCTTCATGTTGTCTGTATTGTAGATGCCACATTGACCATCCAAATCCTAAAGGATTCTGTG	13141
sars294	CATCCAAATCCTAAAGGATTCTGTGACTTGAAAGGTAAGTACGTCCAAATACCTACCACTTGTGCTAATG	13186
sars295	CAAATACCTACCACTTGTGCTAATGACCCAGTGGGTTTTACACTTAGAAACACAGTCTGTACCGTCTGGG	13231
sars296	AGAAACACAGTCTGTACCGTCTGCGGAATGTGGAAGGTTATGGCTGTAGTTGTGAOCAAACCTCGCGAAC	13276
sars297	TGTAGTTGTGAOCAAACCTCGCGAACCTTGTATGCAGTCTGCGGATGCATCAACGTTTTTAAACGGGTTG	13321
sars298	GCATCAACGTTTTTAAACGGGTTTGGGTTGAAGTGCAGCCGCTTTACACCGTGCGGCACAGGCACTAG	13366
sars299	TTACACCGTGCGGCACAGGCACTAGTACTGATGTCGTCTACAGGCTTTTGATATTTACAACGAAAAAGT	13411
sars300	CTTTTGATATTTACAACGAAAAAGTTGCTGGTTTTGCAAGTTCTAAAAACTAATTGCTGTGCTTCCA	13456
sars301	TAAAACTAATTGCTGTGCTTCCAGGAGAAGGATGAGGAAGGCAATTTATTAGACTCTTACTTTGTAGT	13501
sars302	ATTTATTAGACTCTTACTTTGTAGTTAAGAGGCATACTATGTCTAACTACCAACATGAAGAGACTATTTA	13546
sars303	ACTACCAACATGAAGAGACTATTTATACTGGTTAAAGATTGTCCAGCGGTTGCTGTCCATGACTTTTT	13591
sars304	CAGCGGTTGCTGTCCATGACTTTTCAAGTTTAGAGTAGATGGTGACATGGTACCACATATATCAAGTCA	13636
sars305	ACATGGTACCACATATATCACGTCAGCGTCTAACTAAATACACAATGGCTGATTAGTCTATGCTCTACG	13681
sars306	TGGCTGATTTAGTCTATGCTCTACGTCATTTTGATGAGGGTAATTGTGATACATTAAAGAAATACTCGT	13726
sars307	GTGATACATTAAAGAAATACTCGTCACATACAATTGCTGTGATGATGATTATTTCAATAAGAAGGATTG	13771
sars308	ATGATTATTTCAATAAGAAGGATTGGTATGACTTCGTAGAGAATCCTGACATCTTACCGGTATATGCTAA	13816
sars309	CTGACATCTTACCGGTATATGCTAACTTAGGTGAGCGGTACGCCAATCATTATTAAGACTGTACAATT	13861

sars310	AATCATTATTAAGACTGTACAATTCTGCGATGCTATGCGTGATGCAGGCATTGTAGGCGTACTGACATT	13906
sars311	CAGGCATTGTAGGCGTACTGACATTAGATAATCAGGATCTTAATGGGAACGGTACGATTTCGGTGATT	13951
sars312	GGAACGGTACGATTTCGGTGATTTCGTACAAGTAGCACCAGGCTCGGAGTTCCTATTGTGGATTACATA	13996
sars313	GCGGAGTTCTATTGTGGATTTCATATTACTCATTGCTGATGCCATCCTCACTTTGACTAGGGCATTGGC	14041
sars314	TCCTCACITTTGACTAGGGCATTGGCTGCTGAGTCCCATATGGATGCTGATCTCGCAAACCACTTATTA	14086
sars315	CTGATCTCGCAAACCACTTATTAAGTGGGATTTCGTGAAATATGATTTTACGGAAGAGAGACTTTGTCT	14131
sars316	ATTTTACGGAAGAGAGACTTTGTCTCTTCGACCGTTATTTTAAATATTGGGACCAGACATACCATCCAA	14176
sars317	ATTGGGACCAGACATACCATCCAAATTGTATTAAGTGTTCGATGATAGGTGATCCTTCATTGTGCAA	14221
sars318	ATAGGTGTATCCTTCATTGTGCAAACCTTAATGTGTTATTTCTACTGTGTTCCACCTACAAGTTTGG	14266
sars319	CTGTGTTTCCACCTACAAGTTTGGACCAGTAGTAAGAAAAATATTTGTAGATGGTGTTCCTTTTGTGT	14311
sars320	TTGTAGATGGTGTTCCTTTTGTGTTCAACTGGATACCATTTTCGTGAGTAGGAGTCGTACATAATCA	14356
sars321	GTGAGTTAGGAGTCGTACATAATCAGGATGTAACTTACATAGCTCGCGTCTCAGTTTCAAGGAACCTTT	14401
sars322	CGCGTCTCAGTTTCAAGGAACCTTTAGTGTATGCTGCTGATCCAGCTATGCATGCAGCTTCTGGCAATT	14446
sars323	CTATGCATGCAGCTTCTGGCAATTTATGCTAGATAAAGCACTACATGCTTTTCAGTAGCTGCACTAAC	14491
sars324	CATGCTTTTCAGTAGCTGCACATAACAAACAATGTGTCTTTCAAACGTCAAACCCGGTAATTTAATAA	14536
sars325	CTGTCAAACCCGGTAATTTAATAAGACTTTTATGACTTTGCTGTGCTAAAGGTTCTTTAAGGAAGG	14581
sars326	TGTCTAAAGGTTTCTTTAAGGAAGGAAGTTCTGTTGAACTAAACACTTCTTCTTTGCTCAGGATGCCAA	14626
sars327	ACTTCTTCTTTGCTCAGGATGGCAACGCTGCTATCAGTGATTATGACTATTATCGTTATAATCTGCCAAC	14671
sars328	ACTATTATCGTTATAATCTGCCAACATGTGTGATATCAGACAACCTCTATTCGTAGTTGAAGTTGTGA	14716
sars329	TCCTATTCTGAGTTGAAGTTGTGTATAAATACTTTGATTGTTACGATGGTGGCTGTATTAATGCCAACCA	14761
sars330	ATGGTGGCTGTATTAATGCCAACCAAGTAATCGTTAAACAATCTGGATAAATCAGCTGGTTTCCATTAA	14806
sars331	ATAAATCAGCTGGTTTCCATTAAATAAAGGGTAAGGCTAGACTTTATTATGACTCAATGAGTTATGA	14851
sars332	TTTATTATGACTCAATGAGTTATGAGGATCAAGATGCACCTTTTCGCGTATACTAAGCGTAATGTCATCCC	14896
sars333	CGTATACTAAGCGTAATGTATCCTACTATAACTCAAATGAATCTTAAGTATGCCATTAGTGCAAGAA	14941
sars334	TTAAGTATGCCATTAGTGCAAGAAATAGAGCTCGCACCGTAGCTGGTGTCTCTATCTGTAGTACTATGAC	14986
sars335	GTGCTCTATCTGTAGTACTATGACAAATAGACAGTTTCATCAGAAATTATTGAAGTCAATAGCCGCCAC	15031
sars336	AATTATTGAAGTCAATAGCCGCCACTAGAGGAGCTACTGTGTAATTGGAACAAGCAAGTTTACGGTGG	15076
sars337	TTGGAACAAGCAAGTTTACGGTGGCTGGCATAATATGTTAAAACTGTTTACAGTGATGTAGAACTCC	15121
sars338	CTGTTTACAGTGATGTAGAACTCCACACCTTATGGGTTGGGATTATCCAAAATGTGACAGAGCCATGCC	15166
sars339	ATCCAAAATGTGACAGAGCCATGCCAATCATGCTTAGGATAATGGCTCTCTTGTCTTGTCTGCCAAACA	15211
sars340	OCTCTCTTGTCTTGTCTGCCAAACATAAAGTGTGCTGTAACCTTATCACACCGTTTCTACAGGTAGCTAA	15256
sars341	CACACCGTTTCTACAGGTAGCTAACGAGTGTGCCAAGTATTAAGTGAGATGGTCATGTGTGGCGGCTC	15301
sars342	GTGAGATGGTCATGTGTGGCGGCTCACTATATGTTAAACAGGTGGAACATCATCCGGTGATGCTACAAC	15346
sars343	GAACATCATCCGGTGATGCTACAAGTCTTATGCTAATAGTGTCTTTAACATTGTCAAGCTGTTACAGC	15391
sars344	TTAACATTGTCAAGCTGTTACAGCCAATGTAAATGCACCTTCTTTCAACTGATGGTAATAAGATAGCTGA	15436
sars345	CAACTGATGGTAATAAGATAGCTGACAAGTATGTCGCAATCTACAACAGGCTCTATGAGTGTCTCTA	15481
sars346	AACACAGGCTCTATGAGTGTCTCTATAGAAATAGGATGTTGATCATGAATTCTGGATGAGTTTACGC	15526
sars347	ATGAATTCTGGATGAGTTTACGCTTACCTGCGTAAACATTTCTCCATGATGATTCTTTCTGATGATGC	15571
sars348	CCATGATGATTCTTTCTGATGATGCCGTTGTGTGCTATAACAGTAACTATCGCGCTCAAGGTTTAGTAGC	15616
sars349	ACTATGGCGCTCAAGGTTTAGTAGCTAGCATTAAAGAACTTTAAGGCAGTTCTTTATTATCAAAAATAATGT	15661
sars350	CAGTCTTTATTATCAAAAATAATGTGTTTCATGCTGAGGCCAAAATGTTGACTGAGACTGACCTTACTAA	15706
sars351	GTTGGACTGAGACTGACCTTACTAAAGGACCTCACGAATTTGCTCACAGCATACAATGCTAGTTAAACA	15751
sars352	CACAGCATACAATGCTAGTTAAACAAGGAGATGATTACGTGTACCTGCCTTACCCAGATCCATCAAGAAT	15796
sars353	TGCCTTACCCAGATCCATCAAGAATATTAGGCGCAGGCTGTTTGTGATGATATTGTCAAAACAGATGG	15841

sars354	TCGATGATATTGTCAAAACAGATGGTACACTTATGATTGAAAGGTTGCTGCTACTGGCTATTGATGCTTA	15886
sars355	TCGTGCTACTGGCTATTGATGCTTACCCACTTACAAAACATCCTAATCAGGAGTATGCTGATGCTTTCA	15931
sars356	ATCAGGAGTATGCTGATGCTTTCACTTGTATTTACAATACATTAGAAAAGTTACATGATGAGCTTACTGG	15976
sars357	GAAAGTTACATGATGAGCTTACTGGCCACATGTTGGACATGTATTCGGTAATGCTAACTAATGATAACAC	16021
sars358	CCGTAATGCTAACTAATGATAACACCTCACGGTACTGGGAACCTGAGTTTATGAGGCTATGTACACACC	16066
sars359	AGTTTTATGAGGCTATGTACACACCACATACAGTCTTGCAGGCTGTAGGTGCTTGTGATTGTGCAATTC	16111
sars360	TAGGTGCTTGTGATTGTGCAATTACAGACTTCACTTCGTTGCGGTGCTGATTAGGAGACCATTCCT	16156
sars361	GTGCTGTATTAGGAGACCATTCCTATGTTGCAAGTGTGCTATGACCATGTCATTTCACATCACACAA	16201
sars362	ACCATGTCAATTCACATCACACAAATTAGTGTGCTGTTAATCCCTATGTTTGCAATGCCCCAGGTTG	16246
sars363	CCTATGTTTGCAATGCCAGGTTGTGATGCTACTGATGTGACACAACTGTATCTAGGAGGTATGAGCTA	16291
sars364	AACTGTATCTAGGAGGTATGAGCTATTATTGCAAGTCACATAAGCCTCCCATTAGTTTTCCATTATGTGC	16336
sars365	CTCCCATTAGTTTTCCATTATGTGCTAATGGTCAGGTTTTTGGTTTATACAAAAACATGTGTAGGCAG	16381
sars366	TATACAAAAACATGTGTAGGCAGTGACAAATGCTACTGACTTCAATGCGATAGCAACATGTGATTGGAC	16426
sars367	ATGCGATAGCAACATGTGATTGGACTAATGCTGGCGATTACATACTTGCCAACTTGTACTGAGAGACT	16471
sars368	TGCCAACTTGTACTGAGAGACTCAAGCTTTTCGAGCAGAAACGCTCAAAGCCACTGAGGAAACATT	16516
sars369	CGCTCAAAGCCACTGAGGAAACATTTAAGCTGTATATGGTATTGCCACTGTACGCGAAGTACTCTCTGA	16561
sars370	CCACTGTACGCGAAGTACTCTCTGACAGAGAATTGCATCTTCATGGGAGGTTGAAAAACCTAGACCACC	16606
sars371	GGGAGGTTGAAAAACCTAGACCACCAATGAACAGAACTATGCTTTACTGGTTACCGTGAACATAAAAA	16651
sars372	TTACTGGTTACCGTGTAACATAAAATAGTAAAGTACAGATTGGAGAGTACACCTTTGAAAAAGGTGACTA	16696
sars373	AGTACACCTTTGAAAAAGGTGACTATGGTGATGCTGTTGTGTACAGAGTACTACGACATACAAGTTGAA	16741
sars374	GAGGTACTACGACATACAAGTTGAATGTTGGTGATTACTTTGTGTTGACATCTCACTGTAATGCCACT	16786
sars375	TGACATCTCACACTGTAATGCCACTTAGTGCACTACTCTAGTGCCACAAGAGCACTATGTGAGAATTAC	16831
sars376	CACAAGAGCACTATGTGAGAATTACTGGCTTGATCCCAACTCAACATCTCAGATGAGTTTTCTAGCAA	16876
sars377	ACATCTCAGATGAGTTTTCTAGCAATGTTGCAAAATTATCAAAGGTGCGCATGCAAAAGTACTCTACACT	16921
sars378	TCGGCATGCAAAAGTACTCTACACTCCAAGGACCCTGGTACTGGTAAGAGTCAATTTGCCATCGGACT	16966
sars379	GTAAGAGTCATTTTGCCATGGACTTGCTCTCTATTACCATCTGCTCGCATAGTGATAOGGCATGCTC	17011
sars380	CTCGCATAGTGATACGGCATGCTCTCATGCACTGTTGATGCCCTATGTGAAAAGGCATTAAAAATATT	17056
sars381	TATGTGAAAAGGCATTAAAAATATTGCCCATAGATAAATGTAGTAGAATCATACCTGCGCGTGCGCGGT	17101
sars382	GAATCATACCTGCGCGTGCGCGGTAGAGTGTGTTGATAAATCAAAGTGAATTCACACTAGAACAGTA	17146
sars383	AAGTGAATTCACACTAGAACAGTATGTTTCTGCACTGTAATGCATTGCCAGAAACAACTGCTGACAT	17191
sars384	CATTGCCAGAAACAACTGCTGACATTGTAGTCTTTGATGAAATCTCTATGGCTACTAATTATGACTTGAG	17236
sars385	CTATGGCTACTAATTATGACTTGAGTGTGTCATGTAGACTTCGTGCAAAACACTACGTCTATATTGG	17281
sars386	GTGCAAAACACTACGTCTATATTGGCGATCCTGCTCAATTACCAGCCCCCGCACATTGCTGACTAAAGG	17326
sars387	CCCCCGCACATTGCTGACTAAAGGCACACTAGAACAGAAATTTTAATTCAGTGTGCAGACTTATGAA	17371
sars388	TTAATTCAGTGTGCAGACTTATGAAACAATAGGTCCAGACATGTTCTTGAACTTGTGCGGTTGTCC	17416
sars389	TCCTTGAACTTGTGCGCGTTGCTGCTGAAATTGTTGACACTGTGAGTGCTTTAGTTTATGACAATAA	17461
sars390	TGAGTGCTTTAGTTTATGACAATAAGCTAAAAGCACACAAGGATAAGTCAGCTCAATGCTTCAAAATGTT	17506
sars391	AGTCAGCTCAATGCTTCAAAATGTTCTACAAAGGTGTTATTACACATGATGTTTCATCTGCAATCAACAG	17551
sars392	ATGATGTTTCATCTGCAATCAACAGACCTCAAATAGGCGTTGTAAGAGAATTTCTTACACGCAATCCTGC	17596
sars393	GAGAATTTCTTACACGCAATCCTGCTGGAGAAAAGCTGTTTTATCTACCTTATAATTACAGAAACGC	17641
sars394	TCTCACCTTATAATTACAGAACGCTGTAGCTTCAAAATCTTAGGATTGCCTACGCAGACTGTTGATTC	17686
sars395	GATTGCCTACGCAGACTGTTGATTATCACAGGGTCTGAATATGACTATGTCATATTCACACAACTAC	17731
sars396	ACTATGTCATATTCACACAACTACTGAAACAGCACACTCTGTAATGTCAACCGCTTCAATGTGGCTAT	17776
sars397	ATGTCAACCGCTTCAATGTGGCTATCACAAAGGCAAAAATTGGCATTGTTGCATAATGTCTGATAGAGA	17821

sars398	TTTTGTGCATAATGTCTGATAGAGATCTTTATGACAACTGCAATTTACAAGTCTAGAAATACCAAGTCG	17866
sars399	TTACAAGTCTAGAAATACCAAGTCGCAATGTGGCTACATTACAAGCAGAAATGTAAGTGGACTTTTAA	17911
sars400	CAGAAATGTAAGTGGACTTTTAAAGGACTGTAGTAAGATCATTACTGGTCTTCATCCTACACAGGCACC	17956
sars401	CTGGTCTTCATCCTACACAGGCACCTACACACCTCAGCGTTGATATAAAGTCAAGACTGAAGGATTATG	18001
sars402	TAAAGTTCAAGACTGAAGGATTATGTGTTGACATACCAGGCATACCAAGGACATGACCTACCGTAGACT	18046
sars403	CAAAGGACATGACCTACCGTAGACTCATCTCTATGATGGGTTTCAAAATGAATTACCAAGTCAATGGTTA	18091
sars404	AAATGAATTACCAAGTCAATGGTTACCTAATATGTTTATCACCCGGAAGAAGCTATTCGTCAAGTTG	18136
sars405	GCGAAGAAGCTATTTCGTACGTTCCGTGCGTGGATTGGCTTTGATGTAGAGGGCTGTCATGCAACTAGAGA	18181
sars406	TAGAGGGCTGTCATGCAACTAGAGATGCTGTGGTACTAACCTACCTCTCCAGCTAGGATTTTCTACAGG	18226
sars407	CTCTCCAGCTAGGATTTTCTACAGGTGTTAACTTAGTAGCTGACCGACTGGTTATGTTGACACTGAAAA	18271
sars408	CGACTGGTTATGTTGACACTGAAAAATAACACAGAATTCACCAGAGTTAATGCAAAACCTCCACCAGGTGA	18316
sars409	TTAATGCAAAACCTCCACCAGGTGACCAGTTTAAACATCTTATACCACCTCATGTATAAAGGCTTGOCTG	18361
sars410	CACCTCATGTATAAAGGCTTGCCCTGGAATGTAGTGGCTATTAAGATAGTACAAATGCTCAGTGATACACT	18406
sars411	TAGTACAAATGCTCAGTGATACACTGAAAGGATTGTGACACAGAGTCGTGTTCCGTCTTTGGCGCATGG	18451
sars412	TCGTGTTGCTCCTTTGGCGCATGGCTTTGAGCTTACATCAATGAAGTACTTTGTCAAGATTGGAACCTGA	18496
sars413	AGTACTTTGTCAAGATTGGACCTGAAAGAACGTGTTGTCTGTGTGACAAACGTGCAACTTGCTTTTCTAC	18541
sars414	ACAAACGTGCAACTTGCTTTTCTACTTCATCAGATACTTATGCCTGCTGGAATCATTCTGTGGGTTTGA	18586
sars415	GCTGGAATCATCTGTGGGTTTGGACTATGTCTATAACCCATTATGATTGATGTTACGACAGTGGGGCTT	18631
sars416	TGATTGATGTTACGACAGTGGGGCTTTACGGGTAACCTTCAGAGTAACCATGACCAACATTGCCAGGTACA	18676
sars417	ACCATGACCAACATTGCCAGGTACATGGAATGCACATGTGGCTAGTTGTGATGCTATCATGACTAGATG	18721
sars418	GTTGTGATGCTATCATGACTAGATGTTTAGCAGTCCATGAGTGCTTTGTTAAGGCGTTGATTGGTCTGT	18766
sars419	TTGTTAAGCGGTTGATTGGTCTGTGAATACCTATTATAGGAGATGAACTGAGGGTTAATTCTGCTTG	18811
sars420	ATGAACTGAGGGTTAATTCTGCTTGCAAAAAGTACAAACATGGTTGTGAAGTCTGCATTGCTTGCTGA	18856
sars421	TTGTGAAGTCTGCATTGCTTGCTGATAAGTTCCAGTTCTTCATGACATTGGAATCCAAAGGCTATCAA	18901
sars422	ACATTGGAATCCAAAGGCTATCAAGTGTGTGCTCAGGCTGAAGTAGAATGGAAGTTCTACGATGCTCA	18946
sars423	TAGAAATGGAAGTTCTACGATGCTCAGCCATGTAGTGACAAAGCTTACAAAATAGAGGAACCTTCTATTCT	18991
sars424	ACAAAATAGAGGAACCTTCTATTCTTATGCTACACATCAGATAAATCACTGATGGTGTGTTGTTGTT	19036
sars425	AATTCACGTAGGGTGTGTTGTTGTTTGGAAATGTAACGTTGATCGTTACCCAGCCAATGCAATTGTGTG	19081
sars426	GTTACCCAGCCAATGCAATTGTGTGTAGGTTTGACACAAGAGTCTTGTCAAACTTGAACCTTACCAGGCTG	19126
sars427	TGTCAAACCTTGAACCTTACCAGGCTGTGATGGTGGTAGTTTGTATGTGAATAAGCATGCATTCCACACTCC	19171
sars428	TGAATAAGCATGCATTCCACACTCCAGCTTTCGATAAAAGTGCAATTTACTAATTTAAAGCAATTGCCTTT	19216
sars429	TTACTAATTTAAAGCAATTGCCTTTCTTTTACTATTCTGATAGTCTTGAGTCTCATGGCAAACAAGT	19261
sars430	CTTGTGAGTCTCATGGCAAAACAAGTAGTGTGGATATTGATTATGTTCCACTCAAATCTGCTACGTGTAT	19306
sars431	TTCCACTCAAATCTGCTACGTGATTACACGATGCAATTTAGGTGGTGTGTTTGACAGACACCATGCAAA	19351
sars432	GTGCTGTTTGACAGACCATGCAAAATGAGTACCGACAGTACTTGGATGCATATAATATGATGATTCTGCTG	19396
sars433	ATGCATATAATATGATGATTCTGCTGGATTAGCCTATGGATTACAAACAATTTGATACTTATAACCT	19441
sars434	ACAAACAATTGATACCTTATAACCTGTGGAATACATTTACCAGGTTACAGAGTTTAGAAAATGTGGCTTA	19486
sars435	TACAGAGTTTAGAAAATGTGGCTTATAATGTTGTTAATAAAGGACACTTTGATGGACACGCCGGCGAAGC	19531
sars436	ACTTTGATGGACACGCCGGCGAAGCACCTGTTTCCATCATTAAATGCTGTTTACACAAAGGTAGATGG	19576
sars437	ATGCTGTTTACACAAAGGTAGATGGTATTGATGTGGAGATCTTTGAAAATAAGACAACACTTCCTGTAA	19621
sars438	AAAATAAGACAACACTTCCTGTTAATGTTGCAATTTGAGCTTTGGGCTAAGCGTAACATTAAACCAAGTGCC	19666
sars439	CTAAGCGTAACATTAAACAGTGCCAGAGATTAAGATACTCAATAATTTGGGTGTTGATATCGCTGCTAA	19711
sars440	ATTTGGGTGTTGATATCGCTGCTAATACTGTAATCTGGGACTACAAAAGAGAAGCCCCAGCACATGTATC	19756
sars441	AAAGAGAAGCCCCAGCACATGTATCTACAATAGGTGCTGCACAATGACTGACATTGCCAAGAAACCTAC	19801

sars442	TGACTGCACATTGCCAAGAAACCTACTGAGAGTGCTTGTCTTCACTTACTGCTCTGTTTGGATGGTAGAGT	19846
sars443	TTACTGTCTTGTGTTGATGGTAGAGTGGAAAGGACAGGTAGACCTTTTGTAGAAACGCCCGTAATGGTGTTTT	19891
sars444	TTAGAAACGCCCGTAATGGTGTTTTAATAACAGAAAGGTTCAGTCAAAGGTCTAACACCTTCAAAGGGAC	19936
sars445	AAGGTCTAACACCTTCAAAGGGACAGCACAAGCTAGCGTCAATGGAGTCACATTAAATGGAGAATCAGT	19981
sars446	GAGTCACATTAATTTGGAGAATCAGTAAAAACACAGTTAACTACTTTAAGAAAGTAGACGGCATTATTCA	20026
sars447	TTAAGAAAGTAGACGGCATTATTCAACAGTTGCGTGAACCTACTTTACTCAGAGCAGAGACTTAGAGGA	20071
sars448	TTACTCAGAGCAGAGACTTAGAGGATTTAAGCCAGATCACAATGGAAGTACTTTCTCGAGCTGG	20116
sars449	TGGAAGTACTTTCTCGAGCTCGCTATGGATGAATTCATACGGATATAAGCTCGAGGGCTATGCTT	20161
sars450	GATATAAGCTCGAGGGCTATGCCTTCGAACACATCGTTATGGAGATTTGACTCATGGACAACTTGGCGG	20206
sars451	ATTTGAGTCATGGACAACCTGGCGGTCTTCATTAAATGATAGGCTTAGCCAAGCGCTCACAAGATTCAAC	20251
sars452	TAGCCAAGCGCTCACAAGATTCAACACTTAAATTAGAGGATTTATCCCTATGGACAGCAGTGA	20296
sars453	TCCCTATGGACAGCAGTGAAGAAATTAATTCATAACAGATGCGCAACAGGTTTCATCAAAATGTGTGTG	20341
sars454	AAACAGGTTTCATCAAAATGTGTGTGTTCTGTGATTGATCTTTTACTTGATGACTTTGTCGAGATAATAAA	20386
sars455	TTGATGACTTTGTGCGAGATAATAAAGTCACAAGATTTGTGAGTATTTCAAAGTGGTCAAGGTTACAAT	20431
sars456	TTTCAAAGTGGTCAAGGTTACAATTGACTATGCTGAAATTCATTTCATGCTTTGGTGTAAAGGATGGACA	20476
sars457	TCATGCTTTGGTGTAAGGATGGACATGTTGAAACCTTCTACCCAAACTACAAGCAAGTCGAGCGTGGCA	20521
sars458	AACTACAAGCAAGTCGAGCGTGGCAACAGGTTGCGATGCCTAAGTTGTACAAGATGCAAGAAATGCT	20566
sars459	ACTTGTAAGATGCAAGAAATGCTTCTTGAAGTGTGACCTTCAGAAATATGGTGAAGTGTGTTAT	20611
sars460	AGAATTATGGTGAAGATGCTGTTATACCAAAAGGAATATGATGAATGTCGCAAGTATACTCAACTGTG	20656
sars461	ATGTCGCAAGTATACTCAACTGTGTCAATACTTAAATACACTTACTTTAGCTGTACCTACAACATGAG	20701
sars462	CTTTAGCTGTACCTACAACATGAGAGTTATTCACCTTTGGTGTGGCTCTGATAAAGGAGTTGCACACAG	20746
sars463	GCTCTGATAAAGGAGTTGCACACAGGTACAGCTGTGCTCAGACAATGGTTGCCAACTGGCACACTACTGT	20791
sars464	GGTTGCCAACTGGCACACTACTTGTGATTGATCTTAATGACTTGTCTCCGACGCATATTCTACTTT	20836
sars465	TGCTCTCGACGCATATTCTACTTTAATGGAGACTGTGCAACAGTACATACGGCTAATAAATGGGACCT	20881
sars466	TACATACGGCTAATAAATGGGACCTTATTATTAGCGATATGTATGACCTAGGACCAAAACATGTGACAAA	20926
sars467	ACCTAGGACCAAAACATGTGACAAAAGAGAATGACTCTAAGAAGGGTTTTTCACTTATCTGTGTGGATT	20971
sars468	GGTTTTTCACTTATCTGTGTGGATTTATAAAGCAAAAAGTACCGCTGGGTGTTCTATAGCTGTAAGAT	21016
sars469	TGGGTGGTTCTATAGCTGTAAAGATAACAGAGCATCTTGAATGCTGACCTTTACAAGCTTATGGGCA	21061
sars470	CTGACCTTTACAAGCTTATGGGCACTTTCTCATGGTGGACAGCTTTGTTACAAATGTAAATGCATCATC	21106
sars471	TTGTTACAAATGTAAATGCATCATCATCGGAAGCATTTTTAAATGGGGCTAACTATCTTGGCAAGCGAA	21151
sars472	GGGCTAACTATCTTGGCAAGCGGAAGGAACAAATGATGGCTATACCATGCATGCTAACTACATTTTCTG	21196
sars473	CCATGCATGCTAACTACATTTTCTGGAGGAACACAAATCCTATOCAGTTGTCTTCTTACTCTTTGA	21241
sars474	AGTTGTCTTCTTACTCTTTGACATGAGCAATTTCCCTCTTAAATTAAGAGGAAGTGTGTAATGTC	21286
sars475	AATTAAGAGGAAGTGTGTAATGTCTCTTAAGGAGAATCAATCAATGATATGATTTATTCTCTCTGGA	21331
sars476	ATGATATGATTTATTCTCTTCTGGAAAAAGGTAGGCTTATCATTAGAGAAAAACAGAGTTGTGGTTTC	21376
sars477	GAGAAAAACAAGAGTTGTGGTTTCAAGTGATATTTCTGTAAACAACTAAACGAACATGTTTATTTCTT	21421
sars478	ACTAAACGAACATGTTTATTTCTTATTATTCTTACTCTACTAGTGGTAGTACCTTGACCGGTGCAC	21466
sars479	GTGGTAGTGACCTTGACCGGTGCACCACTTTTGATGATGTTCAAGCTCCTAATTACACTCAACATACTTC	21511
sars480	CTCCTAATTACACTCAACATACTTCATCTATGAGGGGGTTACTATCTGATGAAATTTTATGATCAGA	21556
sars481	ATCCTGATGAAATTTTATGATCAGACACTCTTTATTTAACTCAGGATTTATTTCTTCCATTTTATTCTAA	21601
sars482	ATTTATTTCTTCCATTTTATTCTAATGTTACAGGGTTTCATACTATTAATCATACGTTTGGCAACCGCTG	21646
sars483	TTAATCATACGTTTGGCAACCGTGCATACCTTTAAGGATGGATTTATTTTGTGCCACAGAGAAATC	21691
sars484	TTTATTTTGTGCCACAGAGAAATCAAAATGTTGTCGGTGGTGGGTTTTGGTTCTACCATGAACAACAA	21736
sars485	TTTTGGTTCTACCATGAACAACAGTCACAGTGGTGATTTATTATTAACAATTTCTACTAATGTTGTTAT	21781

sars486	TTAACAATTCTACTAATGTTGTTATACGAGCATGTAACTTTGAATTGTGTGACAACCCCTTCTTTGCTGT	21826
sars487	TGTGTGACAACCCCTTCTTTGCTGTTTCTAAACCCATGGGTACACAGACACATACTATGATATTCGATAA	21871
sars488	AGACACATACTATGATATTCGATAATGCATTTAATTGCACCTTCGAGTACATATCTGATGCCCTTTTCGCT	21916
sars489	AGTACATATCTGATGCCCTTTTCGCTTGATGTTTCAGAAAAGTCAGGTAATTTTAAACACTTACGAGAGTT	21961
sars490	GTAATTTTAAACACTTACGAGAGTTTGTGTTTAAAAATAAGATGGGTTTCTCTATGTTTATAAGGGCTA	22006
sars491	GGTTTCTCTATGTTTATAAGGGCTATCAACCTATAGATGTAGTTCGTGATCTACCTTCTGGTTTAAACAC	22051
sars492	GTGATCTACCTTCTGGTTTAAACACTTTGAAACCTATTTTAAAGTGGCTCTTGGTATTAACATTACAAA	22096
sars493	TGCCTCTTGGTATTAAACATTACAAATTTTAGAGCCATTCTTACAGCCTTTTCACTGCTCAAGACATTG	22141
sars494	CCTTTTCACTGCTCAAGACATTTGGGGCAOGTCAGCTGCAGCCTATTTGTTGGCTATTTAAAGCCAAC	22186
sars495	ATTTGTGTGGCTATTTAAAGCCAACTACATTTATGCTCAAGTATGATGAAAATGGTACAATCACAGATGC	22231
sars496	ATGAAAATGGTACAATCACAGATGCTGTTGATTGTTCTCAAAATCCACTTGCTGAACCTCAATGCTCTGT	22276
sars497	CACTTGCTGAACCTCAATGCTCTGTTAAGAGCTTTGAGATTGACAAGGAATTTACCAGACCTCTAATTT	22321
sars498	AAGGAATTTACCAGACCTCTAATTTCAAGGTTGTTCCCTCAGGAGATGTTGTGAGATTCCCTAATATTAC	22366
sars499	ATGTTGTGAGATTCCCTAATAATTACAACTTGTGTCCTTTTGGAGAGTTTAAATGCTACTAAATTOCC	22411
sars500	AGGTTTTTAAATGCTACTAAATTCCTTCTGTCTATGCAATGGGAGAGAAAAAAATTTCTAATTTGTGTTGC	22456
sars501	GAIAAAAAATTTCTAATTTGTGTTGCTGATTACTCTGTGCTCTACAACCTCAACATTTTTCACCTTTAA	22501
sars502	ACTCAACATTTTTTCAACCTTTAAGTGCTATGGCGTTTCTGCCACTAAGTTGAATGATCTTTGCTTCTC	22546
sars503	CTAAGTTGAATGATCTTTGCTTCTCCAATGTCTATGCAGATTCCTTTGTAGTCAAGGGAGATGATGTAAG	22591
sars504	TTGTAGTCAAGGGAGATGATGTAAGACAAATAGCGCCAGGACAACTGGTGTATTGCTGATTATAATTA	22636
sars505	CTGGTGTTATTGCTGATTATAATTATAAATTGCCAGATGATTTGATGGGTTGTGTCCTTGCTTGGAATAC	22681
sars506	TGGGTTGTGTCCTTGCTTGGAATACTAGGAACATTGATGCTACTTCAACTGGTAATTATAATTATAAATA	22726
sars507	CAACTGGTAATTATAATTATAAATATAGGTATCTTAGACATGGCAAGCTTAGGCCCTTTGAGAGAGACAT	22771
sars508	AGCTTAGGOCCTTTGAGAGAGACATATCTAATGTGCTTTCTCCCTGATGGCAAACTTGCAACCCACOC	22816
sars509	CTGATGGCAAACTTGCAACCCACCTGCTCTTAATTTGTTATTGGCCATTAATGATTATGGTTTTTACAC	22861
sars510	CATTAAATGATTATGGTTTTTACACCACTACTGGCATTGGCTACCAACCTTACAGAGTTGTAGTACTTTC	22906
sars511	AACTTACAGAGTTGTAGTACTTTCTTTTGAACCTTTAAATGCACCGGCCACGGTTGTGGACCAAAATT	22951
sars512	CGGCCACGGTTTGTGGACCAAAATTATCCACTGAOCCTTATTAAGAACCAGTGTGCAATTTTAATTTAA	22996
sars513	ACCAGTGTGCAATTTTAATTTTAATGGACTCACTGGTACTGGTGTGTTAACTCCTTCTTCAAAGAGATT	23041
sars514	TGTTAACTCCTTCTTCAAAGAGATTCAACCATTTCAACAATTTGGCCGTGATGTTCTGATTCTACTGA	23086
sars515	GCCGTGATGTTCTGATTTCACTGATTCCGTTGAGATCTTAAACATCTGAAATATTAGACATTTCAOC	23131
sars516	CATCTGAAATATTAGACATTTACCTTGCGCTTTTGGGGGTGTAAGTGAATTACAACCTGGAACAAATGC	23176
sars517	GTGTAATTACACCTGGAACAAATGCTTCACTGAAGTTGCTGTTCTATATCAAGATGTTAACTGCACTGA	23221
sars518	TATATCAAGATGTTAACTGCACTGATGTTTCTACAGCAATTCATGCAGATCAACTCACACCAGCTTGGCG	23266
sars519	CAGATCAACTCACACCAGCTTGGCGCATATATTCTACTGGAACAAATGATTCCAGACTCAAGCAGGCTG	23311
sars520	ATGATTCCAGACTCAAGCAGGCTGTCTTATAGGAGCTGAGCATGTGACACTTCTTATGAGTGGACAT	23356
sars521	TCGACACTTCTTATGAGTGGACATTCCTATTGGAGCTGGCATTGTGCTAGTTACCATACAGTTTCTTT	23401
sars522	GTGCTAGTTACCATACAGTTTCTTTATTACGTAGTACTAGCCAAAAATCTATTGTGGCTTATACTATGTC	23446
sars523	AATCTATTGTGGCTTATACTATGTCTTTAGGTGCTGATGTTCAATTGCTTACTCTAATAACACCATTGC	23491
sars524	TTGCTTACTCTAATAACACCATTTGCTATACCTACTAATCTTTCAATTAGCATTACTACAGAAGTAATGCC	23536
sars525	TTAGCATTACTACAGAAGTAATGCCTGTTTCTATGGCTAAACCTCCGTAGATTGTAATATGTACATCTG	23581
sars526	CCGTAGATTGTAATATGTACATCTGCGGAGATTCTACTGAATGTGCTAATTTGCTTCTCCAATATGGTAG	23626
sars527	CTAATTTGCTTCTCCAATATGGTAGCTTTTGCACACAATAAATCGTGCACTCTCAGGTATTGCTGCTGA	23671
sars528	GTGCACTCTCAGGTATTGCTGCTGAACAGGATCGCAACACCTGAAGTGTTCGCTCAAGTCAAAACAAAT	23716
sars529	AAGTGTTCGCTCAAGTCAAAACAAATGTACAAAACCCCAACTTTGAAATATTTTGGTGGTTTTAATTTTTC	23761

sars530	AATATTTTGGTGGTTTTAAATTTTTCACAAATATTACCTGACCCCTCTAAAGCCAACTAAGAGGTCTTTAT	23806
sars531	TAAAGCCAACTAAGAGGTCTTTTATTGAGGACTTGCTCTTAATAAGGTGACACTCGCTGATGCTGGCTT	23851
sars532	AGGTGACACTCGCTGATGCTGGCTTCATGAAGCAATATGGCGAATGCTAGGTGATTAATGCTAGAGA	23896
sars533	GCTAGGTGATATTAAATGCTAGAGATCTCATTGTGCGCAGAAGTTCAATGGACTTACAGTGTGCCACC	23941
sars534	TCAATGGACTTACAGTGTGCCACCTCTGCTCACTGATGATATGATTGCTGCTACACTGCTGCTCTAGT	23986
sars535	TTGCTGCTACACTGCTGCTCTAGTTAGTGGTACTGCCACTGCTGGATGGACATTTGGTGTGGCGCTGC	24031
sars536	GATGGACATTTGGTGTGGCGCTGCTCTTCAAATACCTTTTGCTATGCAAATGGCATATAGGTTCAATGG	24076
sars537	TGCAAATGGCATATAGGTTCAATGGCATTGGAGTTACCCAAAATGTTCTCTATGAGAACCAAAAACAAAT	24121
sars538	TTCTCTATGAGAAACAAAAACAAATCGOCAAACCAATTTAAACAGGCGATTAGTCAAATTCAGAATCACT	24166
sars539	CGATTAGTCAAATTCAGAATCACTTACAACAACATCAACTGCATTGGGCAAGCTGCAAGACGTTGTTAA	24211
sars540	TGGGCAAGCTGCAAGACGTTGTTAAACAGAATGCTCAAGCATTAAACACACTTGTTAAACAACCTAGCTC	24256
sars541	ACACACTTGTTAAACAACCTAGCTCTAATTTTGGTGCAATTTCAAGTGTGCTAAATGATATCCTTTTCGG	24301
sars542	GTGTGCTAAATGATATCCTTTTCGGCACTTGATAAAGTCGAGGCGAGGTACAAATTGACAGGTTAATTAC	24346
sars543	AGGTACAAATTGACAGGTTAATTACAGGCAGACTTCAAAGCCTTCAAACCTATGTAACACAACAATAAT	24391
sars544	AAACCTATGTAACACAACAATAATCAGGGCTGCTGAAATCAGGGCTTCTGCTAATCTTGCTGCTACTAA	24436
sars545	CTTCTGCTAATCTTGCTGCTACTAAAAATGCTGAGTGTGTTCTTGACAATCAAAAAGAGTTGACTTTTG	24481
sars546	GACAATCAAAAAGAGTTGACTTTTGTGGAAAGGCTACCACTTATGTCTTCCACAAGCAGCCCCGCA	24526
sars547	TGTCTTCCACAAGCAGCCCCGCTGCTGTTGCTCTCTACATGTCAGTATGTGCCATCCAGGAGAG	24571
sars548	TCACGTATGTGCCATCCAGGAGAGGAATTCACCACAGCGCCAGCAATTTGTCATGAAGGCAAAGCATA	24616
sars549	CAATTTGTCATGAAGGCAAAGCATACTTCCCTCGTGAAGGTGTTTTGTGTTTAAATGGCACTTCTTGGTT	24661
sars550	TTGTGTTTAAATGGCACTTCTTGGTTTATTACACAGAGGAATCTTTTCTCCACAAATAATTACTACAGA	24706
sars551	TTTCTCCACAAATAATTACTACAGACAATACATTGCTCAGGAAATTTGTATGTGCTTATTGGCATCAT	24751
sars552	ATTGTATGTGCTTATTGGCATCATTAAACACAGTTTATGATCTCTGCAACCTGAGCTTGACTCATT	24796
sars553	CTCTGCAACCTGAGCTTGACTCATTCAAAGAAGAGCTGGACAAGTACTTCAAAAATCATACATCAOCAGA	24841
sars554	ACTTCAAAAATCATACATCAACAGATGTTGATCTTGGCGACATTTCAAGCATTAAACGCTTCTGTGTCAA	24886
sars555	CAGGCATTAAAGCTTCTGCTGCAACATTCAAAAAGAAATGACCGCCTCAATGAGGTGCTAAAAATTT	24931
sars556	GCTCAATGAGGTGCTAAAAATTTAAATGAATCACTATTGAOCTTCAAGAATTGGGAAAATATGAGCA	24976
sars557	TTCAAGAATTGGGAAAATATGAGCAATATATTAATAGCCCTTGGTATGTTTGGCTCGGCTTCATTGCTGG	25021
sars558	ATGTTTGGCTCGGCTTCATTGCTGGACTAATTGCCATGTCATGTTACAATCTTGCTTTGTTGCATGAC	25066
sars559	TTACAATCTTGCTTTGTTGCATGACTAGTTGTTGCAGTTGCTCAAGGGTGCATGCTTGTGTTCTTG	25111
sars560	AGGGTGCATGCTCTTGTGGTTCTTGCTGCAAGTTGATGAGGATGACTCTGAGCCAGTTCTCAAGGGTGT	25156
sars561	ACTCTGAGCCAGTTCTCAAGGGTGTCAAATTAACATTAACATAAAGCACTTATGGATTGTTTATGAGA	25201
sars562	CGAAGTTATGGATTGTTTATGAGATTTTTACTCTTGGATCAATTAAGTGCACAGCCAGTAAAAATTGAC	25246
sars563	TACTGCACAGCCAGTAAAAATTGACAAATGCTTCTCTGCAAGTACTGTTATGCTACAGCAACGATACCG	25291
sars564	TGTTATGCTACAGCAACGATACCGCTACAAGCCTCACTCCCTTTCGGATGGCTTGTATTGGCGTTGCA	25336
sars565	CGGATGGCTTGTATTGGCGTTGCATTCTTGCTGTTTTTCAGAGCGCTACCAAAAATAATTGGCGCTCAAT	25381
sars566	CGCTACCAAAAATAATTGGCTCAATAAAGATGGCAGCTAGCCCTTTATAAGGGCTTCCAGTTCAATTGC	25426
sars567	TTATAAGGGCTTCCAGTTCAATTGCAATTTACTGCTGCTATTTGTTACCATCTATTACATCTTTTGCTT	25471
sars568	TACCATCTATTACATCTTTTGCTTGTGCTGTCAGGTATGGAGGCGCAATTTTGTACCTCTATGCOCTTG	25516
sars569	GCAATTTTGTACCTCTATGCTTGATATATTTTCTACAATGCATCAACGCATGTAGAATTATTATGAGA	25561
sars570	CAACGCATGTAGAATTATTATGAGATGTTGGCTTGTGGAAGTGCAATCCAAGAACCATTACTTTAT	25606
sars571	CAAATCCAAGAACCATTACTTTATGATGCCAACTACTTTGTTGCTGGCACACATAACTATGACTAC	25651
sars572	CTGGCACACATAACTATGACTACTGTATACCATATAACAGTGTACAGATACAAATTGTCGTTACTGAA	25696
sars573	CACAGATACAATTGTCGTTACTGAAGGTGACGGCATTTCACACCAAACTCAAAGAAGACTACCAAAAT	25741

sars574	AAAACTCAAAGAAGACTACCAAATGGTGGTTATTCTGAGGATAGGCACTCAGGTGTAAAGACTATGTC	25786
sars575	GCACCTCAGGTGTTAAAGACTATGTCGTTGTACATGGCTATTTACCGAAGTTTACTACCAGCTTGAGTCT	25831
sars576	CGAAGTTTACTACCAGCTTGAGTCTACACAAATTACTACAGACACTGGTATTGAAAATGCTACATTCTTC	25876
sars577	TGGTATTGAAAATGCTACATTCTTCATCTTTAAACAAGCTTGTAAAGACCCACCGAATGTGCAAATACAC	25921
sars578	AGACCCACCGAATGTGCAAATACACAAATCGACGGCTCTTCAGGAGTTGCTAATCCAGCAATGGATCCA	25966
sars579	AGTTGCTAATCCAGCAATGGATCCAATTTATGATGAGCCGACGACGACTACTAGCGTGCTTTGTAAGCA	26011
sars580	GACTACTAGCGTGCTTTGTAAGCACAAGAAAGTGACTACGAACTTATGTACTCATTGCTTTCCGAAGAA	26056
sars581	TATGTACTCATTGCTTTCCGAAGAAACAGGTACGTTAATAGTTAATAGCGTACTTCTTTTCTTGCTTTC	26101
sars582	TAGCGTACTTCTTTTCTTGCTTTCGTGGTATCTTGCTAGTCACACTAGCCATCCTTACTGCGCTTCGA	26146
sars583	ACTAGCCATCCTTACTGCGCTTCGATTGTGTGCGTACTGCTGCAATATTGTTAACGTGAGTTTAGTAAAA	26191
sars584	TATTGTTAACGTGAGTTTAGTAAAAACCAACGGTTACGCTACTCGCGTGTAAAAATCTGAACTCTTCT	26236
sars585	GCGTGTAAAAATCTGAACTCTTCTGAAGGAGTTCCTGATCTTCTGGTCTAAACGAACTAATATTATTA	26281
sars586	GGTCTAAACGAACTAATATTATTATTCTGTTTGGAACTTTAACATTGCTTATCATGGCAGACAAAG	26326
sars587	ACATTGCTTATCATGGCAGACAAACGGTACTATTAACGTTGAGGAGCTTAAACAACTCCTGGAACAATGGA	26371
sars588	CTTAACAACTCCTGGAACAATGGAACCTAGTAATAGGTTTCTTATCTAGCCTGGATTATGTTACTAC	26416
sars589	TTCTAGCCTGGATTATGTTACTACAATTTGCCTATTCTAATCGAACAGGTTTTTGTACATAATAAAGC	26461
sars590	AACAGGTTTTTGTACATAATAAAGCTTGTTTTCTCTGGCTCTTGCGCCAGTAACACTTGCTTGTTTTG	26506
sars591	TGGCCAGTAACACTTGCTTGTGTTTGTGCTTGCTGCTCTACAGAATTAATGGGTGACTGGCGGGATTG	26551
sars592	ATTAATTGGGTGACTGGCGGATTGCGATTGCAATGGCTTGATTGTAGGCTTGATGTGGCTTAGCTACT	26596
sars593	GTAGGCTTGATGTGGCTTAGCTACTTCGTTGCTTCTCAGGCTGTTGCTCGTACCCGCTCAATGTGGT	26641
sars594	TTTGCTCGTACCCGCTCAATGTGGTCATTCAACCCAGAAACAACATTCTTCTCAATGTGCCTCTCCGGG	26686
sars595	ATTCTTCTCAATGTGCCTCTCCGGGGACAAATTGTGACCAGACCGCTCATGGAAAGTGAACCTTGTCATTG	26731
sars596	CTCATGGAAGTGAACCTTGTCATTGGTGCTGTGATCATTCGTGGTCACTTGCGAATGGCCGGACACTCC	26776
sars597	CACTTGCGAATGGCCGGACACTCCCTAGGGCGCTGTGACATTAAGGACCTGCCAAAAGAGATCACTGTGG	26821
sars598	GACCTGCCAAAAGAGATCACTGTGGCTACATCAGAACGCTTCTTATTACAAATTAGGAGCGTCGCAGC	26866
sars599	TATTACAAATTAGGAGCGTCGCAGCGTGTAGGCACTGATTCAAGTTTTGCTGCATACAACCGCTACCGTA	26911
sars600	TTTGCTGCATACAACCGCTACCGTATTGGAACATATAAATTAATACAGACCAGCCGGTAGCAACGACA	26956
sars601	ACAGACCAAGCCGGTAGCAACGACAATATGCTTTGCTAGTACAGTAAGTGACAACAGATGTTTCATCTT	27001
sars602	TAAGTGACAACAGATGTTTCATCTTGTGACTTCCAGGTTACAATAGCAGAGATATTGATTATCATTATG	27046
sars603	AGCAGAGATATTGATTATCATTATGAGGACTTTCAGGATTGCTATTGGAATCTTGACGTTATAATAAGT	27091
sars604	TTGGAATCTTGACGTTATAATAAGTTCAATAGTGAGACAATTATTAAAGCCTCTAACTAAGAAGAATTAT	27136
sars605	TAAGCCTCTAACTAAGAAGAATTATTCGGAGTTAGATGATGAAGAACCTATGGAGTTAGATTATCCATAA	27181
sars606	ACCTATGGAGTTAGATTATCCATAAAACGAACATGAAAATTATTCTCTTCTGACATTGATTGTATTAC	27226
sars607	TCTTCTGACATTGATTGTATTACATCTTGGAGCTATATCACTATCAGGAGTGTTAGAGGTACGAC	27271
sars608	ATCAGGAGTGTTAGAGGTACGACTGTACTACTAAAAGAACCTTGCCCATCAGGAACATACGAGGGCAA	27316
sars609	GCCCATCAGGAACATACGAGGGCAATTCAOCATTTCAOCTCTTGCTGACAATAAATTTGCACTAACTTG	27361
sars610	CTGACAATAAATTTGCACTAACTTGCACTAGCACACACTTTCGTTTTGCTTGCTGACGGTACTCGACA	27406
sars611	TTGCTTGCTGACGGTACTCGACATACCTATCAGCTGCGTGCAAGATCAGTTTCAACAAAACCTTTTCAT	27451
sars612	GATCAGTTTCAACAAAACCTTTTCATCAGACAAGAGGAGTTCAACAAGAGCTCTACTCGCCACTTTTCT	27496
sars613	AAGAGCTCTACTCGCCACTTTTCTCATTTGTTGCTGCTAGTATTTTAATACTTTGCTTCAACATTAA	27541
sars614	TTTTAATACTTTGCTTCAACATTAAGAGAAAGACAGAATGAATGAGCTCACTTTAATTGACTTCTATTTG	27586
sars615	GCTCACTTTAATTGACTTCTATTTGTGCTTTTTCAGCTTTCTGCTATTCTTGTTTTAATAATGCTTATT	27631
sars616	ATTCTTGTTTTAATAATGCTTATTATATTTTGGTTTTCTACTCGAAATCCAGGATCTAGAAGAACCTTGT	27676
sars617	AATCCAGGATCTAGAAGAACCTGTACCAAAGCTAAACGAACATGAACTTCTCATTGTTTTGACTTGT	27721

sars618	GAAACTTCTATTGTTTTGACTTGTATTTCTCTATGCACTTGCATATGCACTGTAGTACAGCGCTGTGCA	27766
sars619	ATGCACTGTAGTACAGCGCTGTGCATCTAATAAACCTCATGTGCTTGAAGATCCTTGTAAAGGTACAACAC	27811
sars620	TGAAGATCCTTGTAAAGGTACAACACTAGGGGTAATACTTATAGCACTGCTTGGCTTTGTGCTCTAGGAAA	27856
sars621	CTGCTTGGCTTTGTGCTCTAGGAAAGGTTTTACCTTTTCATAGATGGCACACTATGGTTCAAACATGCAC	27901
sars622	GGCACACTATGGTTCAAACATGCACAOCTAATGTTACTATCAACTGTCAAGATCCAGCTGGTGGTGGCT	27946
sars623	GTCAGATCCAGCTGGTGGTGGCTTATAGCTAGGTGTGGTACCTTCATGAAGGTCACCAAACTGCTGC	27991
sars624	TTCATGAAGGTCAACAACTGCTGCATTTAGAGAGCTACTTGTGTTTTAAATAAAGCAAAATTTAAA	28036
sars625	TTTTAAATAAAGCAAAATTTAAATGTCTGATAATGGACCCCAATCAAACCAACGTAGTGGCCCCCGCA	28081
sars626	TCAAACCAACGTAGTGGCCCCCGCATTACATTTGGTGGACCCACAGATTCAACTGACAATAACAGAATG	28126
sars627	GATTCAACTGACAATAACAGAATGGAGGACGCAATGGGGCAAGGCCAAAACAGCGCCGACCCCAAGGT	28171
sars628	CCAAAACAGCGCGACCCCAAGGTTTACCAATAATACTCGGTCTTGGTTACAGCTCTCACTCAGCATG	28216
sars629	TGGTTCACAGCTCTCACTCAGCATGGCAAGGAGAACTTAGATTCCCTCGAGGCCAGGGCGTTCCAATCA	28261
sars630	CCTCGAGGCCAGGGCGTTCCAATCAACACCAATAGTGGTCCAGATGACCAAAATTGGCTACTACCGAAGAG	28306
sars631	GACCAAATTGGCTACTACCGAAGAGCTACCGACGAGTTCGTGGTGGTACGGCAAAATGAAAGAGCTCA	28351
sars632	GGTGACGGCAAAATGAAAGAGCTCAGCCCCAGATGGTACTTCTATTACCTAGGAACGGCCAGAAGCTT	28396
sars633	TACCTAGGAACCTGGGCCAGAAGCTTCACTTCCCTACGGCGCTAACAAAGAGGCATCGTATGGGTGCAA	28441
sars634	AAAGAAGGCATCGTATGGGTGCAACTGAGGGAGCCTTGAATACACCCAAAGACCACATTGGCACCCGCA	28486
sars635	CCCAAAGACACATTGGCACCCGCAATCCTAATAACAATGCTGCCACCGTGTACAACCTCCTCAAGGAA	28531
sars636	ACCGTGCTACAACCTCCTCAAGGAACAACATTGCCAAAAGGCTTCTACGCAGAGGGAAGCAGAGGCGCA	28576
sars637	TACGCAGAGGGAAGCAGAGGGCGGAGTCAAGCCTCTTCTCGCTCCTCATCAGTAGTCGCGTAATTCAA	28621
sars638	TCATCAGTAGTCGCGTAATTCAAGAAATCAACTCCTGGCAGCAGTAGGGGAAATTCCTGCTCGAA	28666
sars639	AGTAGGGGAAATTCCTGCTCGAATGGCTAGCGGAGGTGGTGAAGTGCCTCGCGCTATTGCTGCTAG	28711
sars640	ACTGCCCTCGCGCTATTGCTGCTAGACAGATTGAACCAGCTTGAGAGCAAAGTTTCTGGTAAAGGCCAAC	28756
sars641	AGCAAAGTTTCTGGTAAAGGCCAACAACAAGGCCAACTGTCACTAAGAAATCTGCTGCTGAGGCAT	28801
sars642	ACTAAGAAATCTGCTGCTGAGGCATCTAAAAGCCTCGCCAAAACGTAAGCCACAAAACAGTACAACG	28846
sars643	CGTACTGCCACAAAACAGTACAACGCTCACTCAAGCATTGGGAGAGTGGTCCAGAACAACCAAGGAA	28891
sars644	CGTGGTCCAGAACAAACCAAGGAAATTTGGGGACCAAGACCTAATCAGACAAGGAACGATTACAAC	28936
sars645	ATCAGACAAGGAACGTGATTACAACATTGGCCGCAAAATGACACAATTTGCTCCAGTGCCCTCTGCATTCT	28981
sars646	TTTGCTCAAGTGCCCTCTGCATTCTTTGGAATGTACGCATTGGCATGGAAGTCACACCTTGGGAACAT	29026
sars647	ATGGAAGTCACACCTTGGGAACATGGCTGACTTATCATGGAGCATTAAATTGGATGACAAAGATCCAC	29071
sars648	ATTAATTTGGATGACAAAGATCCACAATTCAAAGACAACGTCATACTGCTGAACAAGCACATTGAOCAT	29116
sars649	CTGCTGAACAAGCACATTGAOCATACAAAACATTCCCAACACAGACCTAAAAAGGACAAAAAGAAAA	29161
sars650	GAGCCTAAAAAGGACAAAAAGAAAAAGACTGATGAAGCTCAGCCTTTGCCGACAGACAAAAGAAGCAGC	29206
sars651	TTGCCGACAGACAAAAGAAGCAGCCACTGTGACTCTTCTCCTCGCGCTGACATGGATGATTCTCCA	29251
sars652	GCGGCTGACATGGATGATTCTCCAGACAACCTCAAAATTCATGAGTGGAGCTTCTGCTGATTCAACTC	29296
sars653	AGTGGAGCTTCTGCTGATTCAACTCAGGCATAAACACTCATGATGACCACACAAGGCAGATGGGCTATGT	29341
sars654	ACCACACAAGGCAGATGGGCTATGTAAACGTTTTCGCAATTCGGTTTACGATACATAGTCTACTCTTGTG	29386
sars655	TTACGATACATAGTCTACTCTTGTGCAGAAATGAAATTCGTAACATAACAGCACAAAGTAGGTTTAGTTAA	29431
sars656	AAACAGCACAACTAGGTTTAGTTAACTTTAATCTCACATAGCAATCTTAATCAATGTGTAACATTAGGG	29476
sars657	CTTTAATCAATGTGAACATTAGGGAGGACTTGAAGAGCCACCATTTTCATCGAGGCCACGCGGAGT	29521
sars658	CATTTTCATCGAGGCCACGCGGAGTACGATCGAGGTACAGTGAATAATGCTAGCGAGAGCTGCCTATAT	29566
sars659	TAATGCTAGGGAGAGCTGCCTATATGGAAGAGCCCTAATGTGTAAAATTAATTTTAGTAGTGTATCCCC	29611
sars660	AATTAATTTTAGTAGTGTATCCCCATGTGATTTTAATAGCTTCTTAGGAGAATGACAAAAA	29656

另外, 选取四条烟草花叶病毒特异性探针作为阴性对照探针, 序列来源于烟草花叶病毒

基因组 (GenBank 序列号: NC_001367)。如表 2 所示:

表 2 烟草花叶病毒特异性探针序列

序号	序列	起始位点
tmv1	A7ATTCTTAAGTATGTGTGCAAACTTACTTCCCGGCTCTAATAGAGAGGTTTACATGAAGGAGTTTT	895
tmv2	TCTGCTGCGGTGCGAATCTCGTCAAGATCCTCAAAGATACAGCTGCTATTGAOCTTGAACCOGTCAA	2220
tmv3	CTTCTTAAAGGAGTTAAGCTTATTGATAGTGGATAOCTCTGTTAGCOGGTTGGTGTCAOCCGCGAGT	5065
tmv4	TGACAATTGCAGAGGAGGTGTGAGCGTGTCTCGTGGACAAAAGGATGGAAGAGCCGACGAGGCCACT	5145

我们还选取了猪传染性胃肠炎病毒以及禽传染性气管炎病毒特异性探针序列共 12 条探针, 序列见表 3:

表 3 猪传染性胃肠炎病毒以及禽传染性气管炎病毒特异性探针序列

TGEV1	CTCTTATGGTGGTGCTTCAGTTTGTATTATTGCGATGCCATGTTGAACATCCTGCTATTGTAGGATTA
TGEV1_rc	TAATCCATCAATAGCAGGATGTTCAACATGGCATCTGCAATAAATACAACTGAAGCACCACCATAAGAG
TGEV2	AGGTGTTATAACACTTGACAACCAAGATCTTAATGGCAATTTCTACGATTTCCGGCGATTTCTGTGAAGACT
TGEV2_rc	AGTCTTACGAAATCGCGAAATCGTAGAAATTGCCATTAAGATCTTGGTTGTCAAGTGTATAACACCT
TGEV3	GATAATGGTTGTTGATGGGATGGGACTATCCTAAGTGTGACCGTGCTTTACCTAATATGATTAGAATGG
TGEV3_rc	CCATTCTAATCATATTAGGTAAAGCACGGTCACACTTAGGATAGTCCCATCCATCAACAACCATTTATC
AIBV1	AACACTAGAAATGCTTCTGTAGTTATTGGAACAACCAAGTTTATGGCGGTTGGGACAACATGTTGAGAA
AIBV1_rc	TTCTCAACATGTTGTGCCAACCCGACATAAACTTGGTTGTTCCAATAACTACAGAAGCATTCTAGTGTT
AIBV2	TTATGGGTTGGGATTATCCTAAGTGTGATAGAGCAATGCCTAATTGTTGGGTATAGCAGCATCCTTAGT
AIBV2_rc	ACTAAGGATGCTGCTATACGCAACAAATTAGGCATTGCTCTATCACACTTAGGATAATCCCAACCCATAA
AIBV3	TATTTATGTTAAACCTGGTGGCACTAGCAGTGGTGTGCTACTACTGCTTATGCAAACAGTGTTTTAAAC
AIBV3_rc	GTTAAAAACACTGTTTGCATAAGCAGTAGTAGCATCACCAGTCTAGTGCCACCAGGTTTAAACATAAATA

我们还设计了针对香港公布的 CUHK-W1-S 的 SARS 全序列的特异性探针序列共 3 条探针, 序列见表 4:

表 4 CUHK-W1-S 的 SARS 的特异性探针序列

CUHK-W1-S-210	TACTATTAATCATACGTTTGGCAACCCCTGTCATACCTTTTAAGGATGGTA TTTATTTTGTGTCACACAGAG
CUHK-W1-S-710	OCTTTTACCTGCTCAAGACATTTGGGGACGTCAGCTGCAGCTATTTT GTTGGCTATTTAAAGCCAAC
CUHK-W1-S-1710	ATTAGACATTTACCTTGCTCTTTTGGGGGTGAAGTGAATTACACCTG GAACAAATGCTTCATCTGAA

当然不局限于 CUHK-W1-S 的 SARS 还包括了根据其它最新公布的 SARS 序列所设计的特异性探针。

同时选取来自人基因组序列的 40-100 条寡核苷酸单个或者成组分布排列作为芯片扫描的对照。

SARS 冠状病毒 TOR2 株 660 个探针, 烟草花叶病毒 4 个探针, 猪传染性胃肠炎病毒以及禽传染性气管炎病毒 12 条探针, CUHK-W1-S 的 SARS 全序列探针序列共 3 条探针, 最后, 上述总共 679 个探针。

实施例 2 芯片点制

将上述 679 个探针约计为 680 个探针进行矩阵设计。按 679 条探针进行合成, 合成产物溶于点样缓冲液 (3×SSC), 终浓度为 800ng/ul。通过基因芯片点样仪将探针溶液点于醛基修饰的玻璃片基上, 随后在湿度为 60% 的环境中进行水合 30min, 以使探针的氨基与片基的醛基发生连接反应, 从而使探针固定于片基之上。

点制规则为每条探针重复三个点, 分为 5 个矩阵, 每个矩阵 136 条探针, 每个矩阵包括

38 个阳性坐标点, 形成 25 列×14 行的点阵。如说明书附图中图 1 所示, 图 1 为 SARS 冠状病毒全基因组芯片点样示意图, 每组三联点为一条探针。图中的 A 所示的灰色点为阳性坐标点, B 所示的黑色三联点为检测探针。

实施例 3 样本处理与标记

对于可能含有 SARS 冠状病毒的待测样本, 通过 Trizol 试剂应用常规方法提取总体 RNA, 用 5' 端带有特异性末端的九碱基随机引物 (GTTTCCCAGTCACGATCNNNNNNNN) 进行随机反转录, 然后利用特异性末端 (GTTTCCCAGTCACGATC) 进行特异性扩增, 在扩增的过程中掺入 Cy3 或 Cy5 标记的 dCTP 以使扩增产物带有荧光信号。

操作流程如下:

RT: (20ul 体系),

1ul 随机引物 (GTTTCCCAGTCACGATCNNNNNNNN, 100pmol/ul)

2ul RNA 模板 (1-2ug 总体 RNA)

1ul dNTP (10mM)

8ul DEPC-ddH₂O

混匀, 70℃5min, 迅速冰浴, 快速离心

加入 4ul 5*第一链合成 Buffer

2ul 0.1M DTT

1ul RNA 酶抑制剂 (40U/ul)

25℃5min, 加入 1ul 反转录酶, 混匀, 25℃10min, 42℃1h, 70℃15min 终止。

PCR: A: (20ul 体系)

RT 产物 1ul

10*PCR Buffer 2ul

随机引物 1ul (GTTTCCCAGTCACGATCNNNNNNNN, 100pmol/ul)

dNTP (10mM) 0.6ul

ddH₂O 14.4ul

Taq (5U/ul) 1ul

95 5min—94 1min—30 5min—72 3min—5cycles—72 5min

B: (50ul 体系)

PCR-A 产物 5ul

10*PCR Buffer 5ul

特异引物 2ul (GTTTCCCAGTCACGATC, 100pmol/ul)

dNTP (10mM) 1ul

Cy3/5-dCTP (1mM) 1ul

ddH₂O 34ul

Taq (5U/ul) 2ul

95 5min—94 50s—40 1min—50 1min—72 1min—30cycles—72 5min

实施例 4 芯片杂交:

将芯片进行预处理, 即分别用 0.5%SDS 和去离子水漂洗芯片, 晾干备用。

将标记好的 50ul 待测样品扩增产物进行冷冻真空干燥, 用 1×杂交缓冲液 20ul 重新溶解, 95℃变性 5min, 迅速冰浴, 取 20ul 杂交液滴加于芯片表面, 并以盖玻片覆盖, 37℃温浴 1 小时后, 分别用 0.5%SDS 和去离子水漂洗芯片 5min, 晾干后通过基因芯片扫描仪扫描芯片, 并利用分析软件计算各条探针的信号值与分析阴阳性结果。

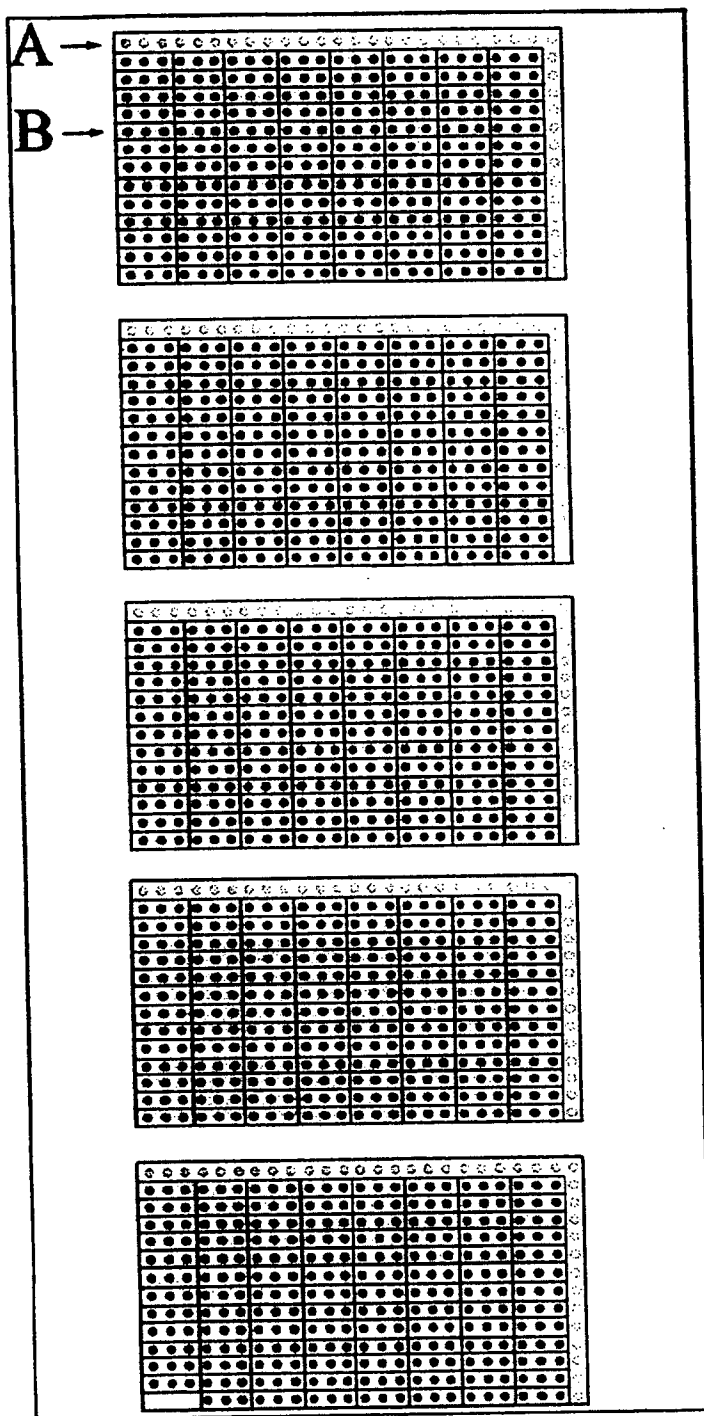
实施例 5 结果分析：

经过采集 SARS 冠状病毒的标准毒株（临床病人的血清及呼吸道分泌物样品）以及其他与 SARS 冠状病毒具有同源性的冠状病毒，包括感染性支气管炎病毒（Infectious bronchitis virus）、牛冠状病毒（Bovine coronavirus）等（病毒标准品），采用正常人血清及呼吸道分泌物样品作为阴性实验对象，根据以上技术路线进行多次实验，得到实验结果为：

- 1、杂交结果中阴性对照探针均呈现阴性信号；
- 2、标准毒株杂交结果中 SARS 冠状病毒检测探针中阳性率为 83%-92%；
- 3、其他与 SARS 冠状病毒相关的冠状病毒杂交结果中 SARS 冠状病毒检测探针中阳性率为 37%-58%；
- 4、阴性实验对象杂交结果中 SARS 冠状病毒检测探针中阳性率为 1%-16%。

通过以上实验得到杂交实验结果判定标准，即在阴性探针反应呈阴性的前提下，80%以上检测探针为阳性结果时可判定待测样品带有 SARS 病毒；30%-80%检测探针为阳性结果时可判定待测样品带有与 SARS 病毒相关的病毒；30%以下检测探针为阳性结果时可判定待测样品不带有与 SARS 病毒相关的病毒。

图 1



BEST AVAILABLE COPY